

Die Auswirkung einer dreiwöchigen
Extremitätenimmobilisation
auf die Muskulatur
und deren Gefäßversorgung
und die Möglichkeit einer Prävention
der Schädigung durch eine gleichzeitig
erfolgende Elektrotherapie

Untersuchungen
am M. gastrocnemius der Ratte

Walter Wagner

Guss
München
1986

Aus der
Klinik für Physikalische Medizin
der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. med. H. Drexel

"Die Auswirkung einer dreiwöchigen Extremitätenimmobilisation auf die Muskulatur und deren Gefäßversorgung und die Möglichkeit einer Prävention der Schädigung durch eine gleichzeitig erfolgende Elektrotherapie"

Untersuchungen am M. gastrocnemius der Ratte

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Walter Wagner
aus München

1986

Mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. W. Schnizer
Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. H. Drexel
Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 24.04.1986

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung
2. Methodik
 - 2.1. Tierexperimentelle Durchführung
 - 2.1.1. Einteilung in verschiedene Versuchsgruppen
 - 2.1.2. Praktische Durchführung der Immobilisation
 - 2.1.3. Praktische Durchführung der Elektrotherapie
 - 2.2. Präparation des Musculus gastrocnemius
 - 2.3. Konservierung der Muskelpräparate
 - 2.4. Histochemische Verfahren
 - 2.4.1. Herstellung von Objektträgern mit Gewebeschnitten
 - 2.4.2. Darstellung zweier verschiedener Fasertypen und der Kapillaren in den Muskelquerschnitten
 - 2.4.2.1. Färbeprozedur
 - 2.4.2.2. Vorversuche
 - 2.5. Auswertung der gefärbten Muskelpräparate
 - 2.5.1. Herstellung von Photographien
 - 2.5.2. Kapillarzählung
 - 2.5.3. Myometrie (Histometrie)
 - 2.6. Statistische Auswertung
 - 2.6.1. Statistische Merkmale der Zahlengruppen
 - 2.6.2. Signifikanzberechnung

- 3. Ergebnisse
 - 3.1. Tiergewicht
 - 3.2. Muskelgewicht
 - 3.2.1. Ausmaß der Atrophie
 - 3.2.2. Auswirkungen der Schwellstromtherapie
 - 3.2.3. Auswirkungen der Therapie mit galvanischem Strom
 - 3.2.4. Statistik
 - 3.2.5. Graphische Darstellung
 - 3.3. Muskelfaserdurchmesser
 - 3.3.1. Ausmaß der Atrophie
 - 3.3.2. Auswirkungen der Schwellstromtherapie
 - 3.3.3. Auswirkungen der Therapie mit galvanischem Strom
 - 3.3.4. Zusammenfassung der Teilergebnisse
 - 3.3.5. Statistik
 - 3.3.6. Graphische Darstellung
 - 3.3.7. Summenhistogramme
 - 3.4. Kapillarisation
 - 3.4.1. Auswirkungen der Immobilisation
 - 3.4.2. Auswirkungen der Schwellstromtherapie
 - 3.4.3. Auswirkungen der Therapie mit galvanischem Strom
 - 3.4.4. Zusammenfassung der Teilergebnisse
 - 3.4.5. Statistik
 - 3.4.6. Graphische Darstellung
 - 3.5. Kapillardichte
 - 3.5.1. Auswirkung der Immobilisation
 - 3.5.2. Auswirkung der Schwellstromtherapie
 - 3.5.3. Auswirkung der Therapie mit galvanischem Strom

3.5.4. Zusammenfassung der Teilergebnisse

3.5.5. Statistik

3.5.6. Graphische Darstellung

4. Diskussion

5. Zusammenfassung

6. Anhang

6.1. Einzeldaten der Tiere

6.1.1. Muskelgewicht (in mg)

6.1.2. Muskelfaserdurchmesser

6.1.3. Kapillarisierung

6.1.4. Kapillardichte

7. Literaturangaben

8. Lebenslauf

9. Danksagung

1. Einleitung

Aus vielerlei Gründen ist es in der Humanmedizin notwendig, Extremitäten zu immobilisieren. Die dadurch gewährleistete Ruhigstellung führt zur schnelleren Ausheilung vor allem von Entzündungen, Verletzungen oder nach operativen Eingriffen. Eine wichtige Aufgabe der physikalischen Therapie ist es, die immobilisationsbedingten Nebenwirkungen wie Atrophie und Durchblutungsstörungen der Muskulatur zu behandeln. Dies geschieht meist durch krankengymnastische Übungen und transkutane Applikation von elektrischen Reizströmen nach (!) Beendigung der Ruhigstellung, z.B. Abnahme eines Gipsverbandes.

Ziel dieser Arbeit war es, mit Hilfe von Tierexperimenten zu untersuchen, ob diese durch Immobilisationsverbände hervorgerufenen Schädigungen der Muskulatur durch eine während der Ruhigstellung erfolgende Elektrotherapie verringert oder sogar verhindert werden können. Dabei wurde der Einfluß von zwei heute sehr gebräuchlichen Strombehandlungsformen untersucht: niederfrequente Schwellstromtherapie und die sogenannte Gleichstromtherapie.

2. Methodik

2.1. Tierexperimentelle Durchführung

Die Versuche wurden an 69 männlichen Ratten des Stammes Wistar vorgenommen. Die Tiere waren zu Beginn der Versuche durchschnittlich 190 g schwer. Sie stammten aus insgesamt 7 Würfen, die jeweils gleichmäßig auf die verschiedenen Versuchsgruppen verteilt wurden. Am Ende des dreiwöchigen Versuchsprogramms wurden bei allen Tieren beide musculi gastrocnemii entnommen und hinsichtlich ihres Gewichts, ihrer Fasergröße (Durchmesser), Kapillarisierung und Kapillardichte untersucht.

2.1.1. Einteilung in verschiedene Versuchsgruppen

Die Tiere wurden in 4 Gruppen eingeteilt:

Gruppe I : Immobilisation und gleichzeitige Schwellstromtherapie der rechten hinteren Extremität bei 21 Tieren.

Gruppe II : Immobilisation und gleichzeitige Therapie mit galvanischem Strom der rechten hinteren Extremität bei 19 Tieren.

Gruppe III: Immobilisation der rechten hinteren Extremität ohne Elektrotherapie bei 15 Tieren.

Gruppe IV : Keinerlei Manipulation (keine Immobilisation, keine Elektrotherapie) bei 14 Tieren.

2.1.2. Praktische Durchführung der Immobilisation

In der einschlägigen Literatur sind verschiedene Möglichkeiten der Immobilisation von Rattenextremitäten zur Erzeugung einer signifikanten Inaktivitätsatrophie beschrieben worden (4,12,37). Für die hier durchgeführten Untersuchungen wurde ein einfaches, leicht reproduzierbares Verfahren entwickelt. Zu diesem Zweck wurde den Tieren eine Kunststoffschiene in der Art eines Unterschenkelgipses angelegt, die eine freie Beweglichkeit des Kniegelenks zuließ, das Sprunggelenk aber in leichter Plantarflexion fixierte. Auf diese Weise konnte eine weitgehende Inaktivierung des *Musculus gastrocnemius* erreicht werden.

Der verwendete Kunststoff war so beschaffen, daß er sich in warmem Wasser leicht formen ließ und so den Erfordernissen entsprechend angepaßt werden konnte (Abb. 1).

Grundform der Kunststoffplatte

Manuelles Formen der Platte zu einer Schiene

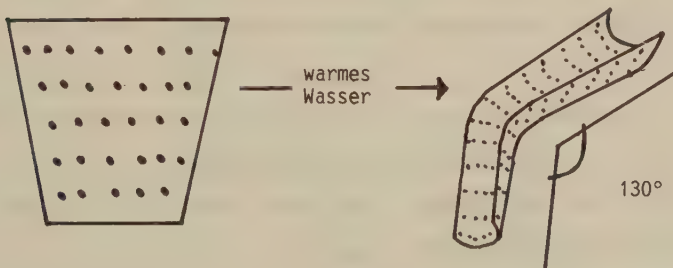


Abb. 1: Herstellen der Kunststoffschiene.

Die Schiene wurde beim Anlegen an die Extremität mit Watte gepolstert, um eventuellen Durchblutungsstörungen und daraus sich ergebenden Gewebeschädigungen vorzubeugen. Anschließend wurde sie mit zirkulär geklebten Leukoplaststreifen am Unterschenkel fixiert.

In Vorversuchen war festzustellen, daß diese Art des Immobilisationsverbandes unzureichend war, da die meisten Tiere die weiche Leukoplastschicht bereits innerhalb weniger Stunden derart angenagt hatten, daß eine ausreichende Ruhigstellung des Gelenks nicht mehr gewährleistet war.

Dieses Problem wurde durch zusätzliches Aufbringen von stabilem Gewebeband gelöst. Dadurch waren die Tiere nicht mehr in der Lage eine suffiziente Immobilisierung zu gefährden.

Die Qualität jedes einzelnen Verbandes wurde täglich überprüft und eventuelle Beschädigungen korrigiert. Dieser Immobilisationsverband wog konstant 12 g, ein Betrag, der etwa 6% des Tiergewichts darstellt. So konnte ein Verhältnis Körpergewicht/"Gipsgewicht" erreicht werden, das in etwa den Gegebenheiten in der Humanmedizin entspricht.

2.1.3. Praktische Durchführung der Elektrotherapie

Es kamen zwei Arten der Reizstromtherapie zur Anwendung: Gleichstrom- und niederfrequente Schwellstromtherapie (30 Hz).

Diesen beiden Therapieformen kommt heute innerhalb der physikalischen Medizin eine bedeutende Stellung zu.

So ist die niederfrequente Schwellstromtherapie vor allem bei Inaktivitätsatrophien indiziert, während die Gleichstromtherapie (Galvanisation) hauptsächlich bei peripheren Durchblutungsstörungen arteriosklerotischer Genese Anwendung findet. Einige Autoren beschrieben Steigerungen der Durchblutungsgrößen an der Muskulatur bis zu 300% (17,40).

In den vorliegenden Versuchen wurden die zwei oben angeführten Stromformen mit dem Gerät Neuroton 510 der Firma Siemens erzeugt. Sie sind durch die im folgenden beschriebenen Reizstromparameter charakterisiert.

a) Schwellstrom (Impulsstrom)

Es handelt sich hierbei um eine Stromform, die durch Serien von kurzen Impulsen tetanische Muskelkontraktionen auslöst. Diese Impulsserien sind amplitudenmoduliert, i.e. die Stromstärke der Einzelimpulse steigt kontinuierlich bis zu einem Maximalwert an, um dann wieder abzufallen. In den vorliegenden Versuchen wurde dieser Maximalwert (Spitzenstromstärke) mit 1 mA so gewählt, daß am therapierten Unterschenkel Muskelkontraktionen beobachtet werden konnten, die Tiere jedoch keine Schmerzäußerung zeigten.

Die dabei benutzte Impulsdauer wurde wegen der leichten Ansprechbarkeit von normal innervierten Muskeln mit 1 ms relativ kurz gewählt.

Die Zeit zwischen zwei Einzelimpulsen (Impulspause) betrug 32 ms (Abb. 2). Aus diesen beiden Werten ergibt sich eine Reizstromfrequenz von 30 Hz.

Eine Impulsserie (Schwellung) bestand aus 60 Einzelimpulsen und dauerte 2 Sekunden. Die Pause zwischen zwei Schwellungen betrug 4 Sekunden, woraus sich eine Schwellfrequenz von 10 Schwellungen pro Minute ergab (Abb. 3).

Dies bedeutet, daß der Musculus gastrocnemius sich während der Therapie 10 mal pro Minute kontrahierte.

Behandelt wurden die Tiere an 6 Tagen in der Woche für jeweils 30 Minuten. Die Therapie erstreckte sich insgesamt über einen Zeitraum von drei Wochen.

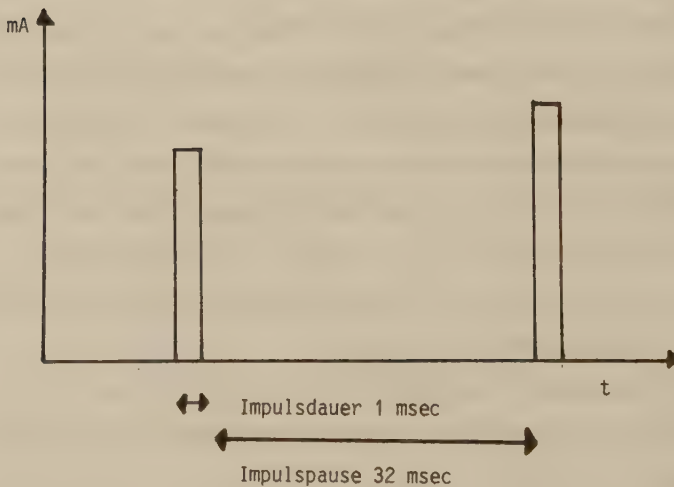


Abb. 2: Darstellung der Einzelimpulse mit Impulsdauer und Impulspause.

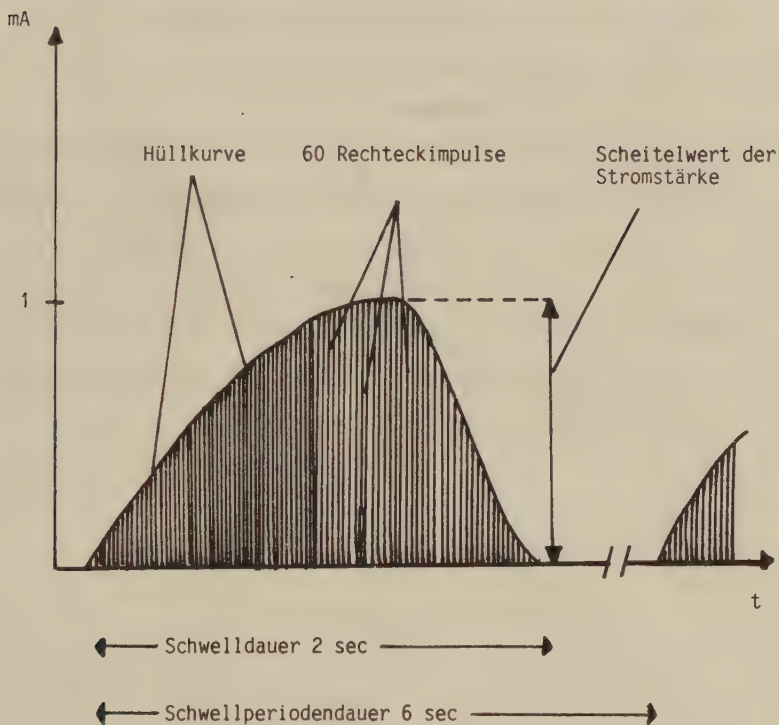


Abb. 3: Niederfrequenter Schwellstrom (Impulsstrom)

(Darstellung einer Impulsreihe mit ihren charakteristischen Parametern).

b) Gleichstrom (Galvanischer Strom)

Als Gleichstrom wird ein Strom gleicher Stromrichtung und gleichbleibender Intensität definiert (17). Zur Therapie wurde eine Stromstärke von circa 900 Mikroampere gewählt. Diese wurde von den Tieren gerade noch toleriert, i.e. ohne Schmerzáußerung hingenommen. Bei der Einstellung der erforderlichen Stromintensität war besonders zu beachten, daß einschleichend begonnen, bzw. ausschleichend aufgehört wurde, um schmerzhafte Reize auf Nerven und Muskeln zu vermeiden (Abb. 4). Die Behandlungsdauer und der Gesamtbehandlungszeitraum glichen denen bei der Schwellstromtherapie (30 min./Tag; 6 Tage/Woche; 3 Wochen insgesamt).

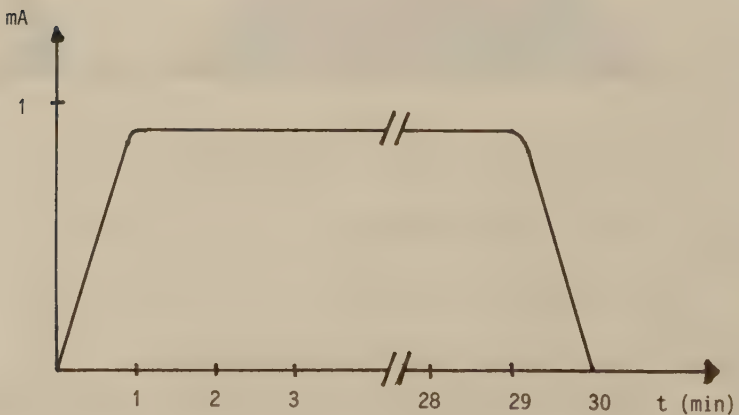


Abb. 4: Zeitlicher Verlauf der Stromstärke bei Gleichstromtherapie.

Die Anwendung von Plattenelektroden zur Stromapplikation, wie sie in der Humanmedizin üblich ist, erweist sich bei Experimenten mit Ratten wegen der sehr kleinen Extremität als äußerst schwierig.

Deshalb wurde bei den vorliegenden Versuchen der Therapiestrom von den Kabelklemmen direkt über Viskoseschwämmchen auf das Rattenbein übertragen. Diese Schwämmchen hatten eine normierte Größe von 1,0 cm Breite, 0,8 cm Dicke und 10 cm Länge. Sie wurden nach Anfeuchten in warmem Wasser unter leichtem Zug jeweils proximal und distal des Immobilisationsverbandes um die Extremität gelegt. Die Viskoseschwämmchen wurden fixiert, indem die beiden überstehenden Enden mit einer Klemme zusammengehalten wurden. Proximal der Schiene war diese mit einem zuleitenden und distal mit einem ableitenden Kabel verbunden (Abb. 5).

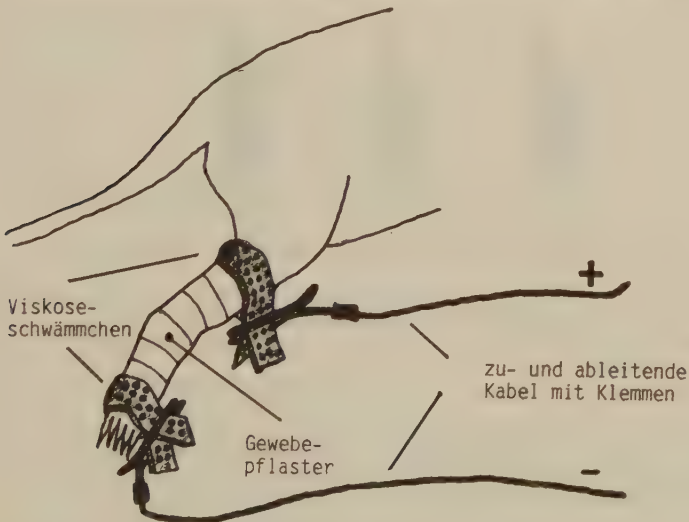


Abb. 5: Stromapplikation bei einer immobilisierten Rattenextremität mittels Viskoseschwämmchen und Klemmen.

Es wurden immer mehrere Tiere in Serie geschaltet, um sie gleichzeitig behandeln zu können (Abb. 6).

Das Therapiegerät besaß eine stromkonstante Ausgangsschaltung (Constant-Current-Gerät).

Dadurch konnte jedem einzelnen Tier, unabhängig von der Anzahl der behandelten Tiere im Stromkreis, genau die am Therapiegerät eingestellte Stromintensität verabreicht werden.

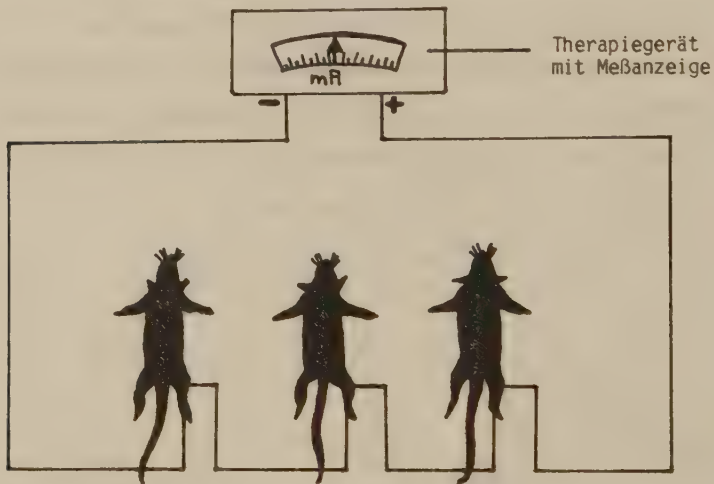


Abb. 6: Versuchsaufbau für die gleichzeitige Behandlung mehrerer Tiere.

Die Strombehandlung mußte dauernd überwacht werden, um die Viskoseschwämmchen mit warmem Wasser nachzufeuchten, die Kabelisolierung auf evtl. durch Bisse entstandene Schadstellen zu überprüfen und den festen Sitz der Klemmen zu kontrollieren.

2.2. Präparation des Musculus gastrocnemius

Nach dreiwöchiger Versuchsdauer wurde aus beiden hinteren Extremitäten jedes einzelnen Tieres der Musculus gastrocnemius entnommen.

Während der Präparation waren die Tiere durch intraperitoneale Applikation von 0,2 ml Narkotin betäubt. Sie wurden mit der Bauchseite auf eine Korkplatte gelegt und mit Hilfe von Stecknadeln wurden alle vier Extremitäten in gestrecktem Zustand auf der Unterlage befestigt. Auf diese Weise waren die Tiere für die Präparation ausreichend fixiert.

Mit einer chirurgischen Pinzette wurde nun die Haut von der darunterliegenden Muskulatur abgehoben, mit einer kleinen Schere von distal nach proximal eröffnet und schließlich zur Seite präpariert. Der jetzt zum Vorschein kommende bedeutendste Beugemuskel des Unterschenkels, der zweiköpfige Musculus biceps femoris, bedeckt mit seinem caudalen Anteil das proximale Drittel der Wadenmuskulatur. Der craniale Kopf zieht mit einer breiten Basis von dem letzten Kreuz- und dem ersten Schwanzwirbel zur Höhe des Sitzbeinhöckers, wo er sich mit dem caudalen Kopf vereinigt. Von hier aus verläuft er nach distal und inseriert oberhalb des lateralen Condylus am Femur. Der caudale Kopf, der am Sitzbeinhöcker entspringt, verbreitert sich nach unten und inseriert an der proximalen Tibiahälfte (13,55).

Beide Teile des Musculus biceps femoris wurden an ihren Ansatzpunkten abgelöst und nach oben geklappt.

Nun wird der *Musculus gastrocnemius* sichtbar, der den Hauptteil der Wadenmuskulatur ausmacht. Er besteht aus zwei Köpfen, von denen der laterale am *Condylus lateralis femoris* mit einer Sehne an der Patella entspringt. Der mediale und stärkere Teil entspringt dagegen am *Condylus medialis femoris*.

Beide Teile vereinigen sich am proximalen Ende des Unterschenkels und bilden gemeinsam mit dem *Musculus soleus*, den sie bedecken, im distalen Drittel des Unterschenkels die Achillessehne, welche am *Tuber calcanei* inseriert (Abb. 7).

Aus dieser anatomischen Position ergibt sich die Funktion des *Musculus gastrocnemius* als Plantarflexor des Fußes. Dieser Muskel ist beim Gehen von besonderer Bedeutung, da er nicht nur beim Abheben der Ferse, sondern auch beim Beugen im Kniegelenk wirksam wird. Der *Musculus gastrocnemius* wurde an seinen beiden Ursprungsstellen und an seiner Ansatzstelle abgelöst und entfernt.

Nachdem beide *musculi gastrocnemii* aus den hinteren Extremitäten entnommen waren, wurde das Tier mit einer Letaldosis Narkotin eingeschläfert.

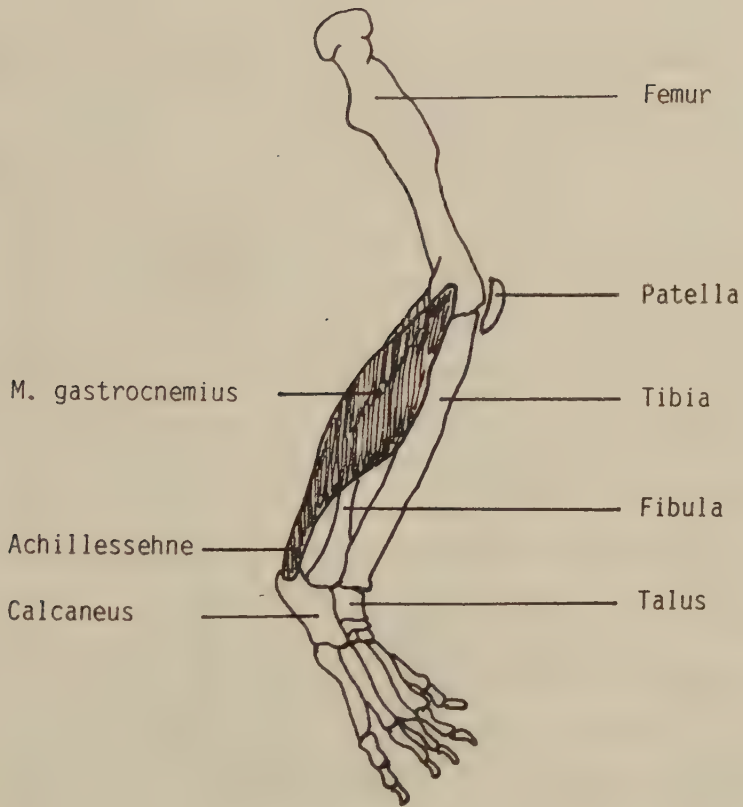


Abb. 7: Skelett der hinteren Rattenextremität mit Ursprung, Ansatz und Verlauf des Musculus gastrocnemius.

2.3. Konservierung der Muskelpräparate

Sofort nach der Präparation der musculi gastrocnemii wurden diese für die spätere histochemische Verarbeitung konserviert. Hierzu wurde die Methode der Schnellgefrierung mit flüssigem Stickstoff angewandt (46). Zu diesem Zweck wurde der Muskel proximal des Muskel-Sehnen-Überganges senkrecht zur Längsachse mit einer Schere durchschnitten. Mit der so erhaltenen ebenen Grundfläche konnte das Präparat auf ein Korkplättchen aufgesetzt werden, das zuvor mit einem Gewebekleber beschichtet worden war. Diesen Gewebekleber erhält man, wenn man unter Erwärmung 5 g Gum-*Tragacanth* in 100 ml destilliertem Wasser verrührt (Aufbewahrung des Klebers mit einer Spur Thymol bei 4°C).

Der Muskel war nun wie ein aufrechter Zylinder ausgerichtet, um später mit dem Schneidegerät (Mikrotom) exakte Querschnitte herstellen zu können.

Bei der anschließenden Einfrierung des Muskelpräparates war vor allem dessen schnelle Abkühlung wichtig, da ansonsten Artefakte auftreten können. Dazu wurde das Präparat mit einer langstieligen Pinzette 2 Minuten lang in ein Gefäß mit 2-Methylbutan gehalten, das mit Hilfe von flüssigem Stickstoff auf eine Temperatur von minus 193°C gebracht wurde (Abb. 8). Das direkte Einfrieren des Muskels in flüssigem Stickstoff hätte den Nachteil, daß sich um das Präparat eine Schicht von Stickstoffgas bilden würde, was eine Verlängerung der Einfrierungszeit zur Folge hätte. Im Anschluß an die Schnellgefrierung wurde das Muskelpräparat sofort in ein verschraubbares Plastikdöschen gegeben, welches in flüssigem Stickstoff vorgekühlt worden war. Bis zur weiteren Aufarbeitung wurde

das Präparat in einem Gefrierschrank bei einer Temperatur von minus 80°C aufbewahrt. Die Zeit von der Muskelentnahme bis zum Einbringen in 2-Methylbutan sollte 30 Minuten nicht überschreiten (46). In den vorliegenden Untersuchungen wurden dazu nie mehr als 5 Minuten benötigt.

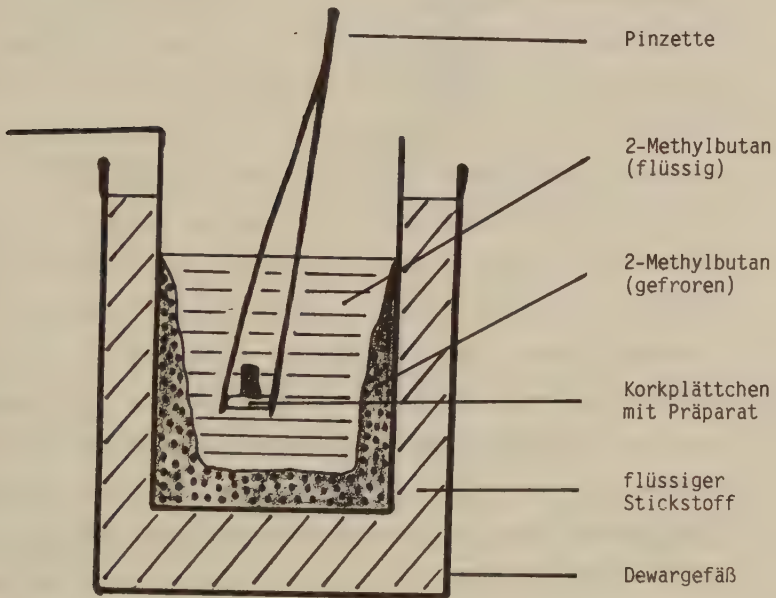


Abb. 8: Darstellung der Schnellgefrierung eines Muskelpräparates mit abgekühltem 2-Methylbutan.

2.4. Histochemische Verfahren

2.4.1. Herstellung von Objektträgern mit Gewebeschnitten

Die histochemischen Färbungen zum Zwecke der Muskelfaser- und Kapillardarstellung wurden an Gefrierschnitten vorgenommen. Hierdurch konnte eine Schrumpfung der Muskelfaserdurchmesser, wie sie bei herkömmlichen Paraffinschnitten mit bis zu 30% auftritt (46), vermieden werden. Die Gefrierschnitte wurden mit einem Schneidmesser (Mikrotom), das in einem Kryostat der Firma American Optical montiert war, bei einer Temperatur von minus 20°C hergestellt. Dazu mußten die Korkplättchen mit dem darauf befindlichen, tiefgefrorenen Muskelpräparat auf einen Metallstempel aufgeblockt werden. Das Verbindungsmaterial (Tissue Tek II O.C.T. Compound) zwischen Korken und Stempel wurde bei der im Kryostat herrschenden Temperatur von minus 20°C hart und gewährleistete somit eine stabile Befestigung des Muskelpräparats auf dem Metallstempel. Dieser wurde in einer Haltevorrichtung verschraubt, die auf einer Schiene gegen das Schneidmesser (Mikrotom) bewegt werden konnte. Durch Höhenverstellung des Schneidmessers konnten verschiedene Schnittdicken (5 - 25 µm) erhalten werden. Für die vorliegenden Untersuchungen wurden ausschließlich Gefrierschnitte mit einer Dicke von 10 µm verwendet. Beim Schneiden schob sich der Gefrierschnitt auf das Mikrotom und wurde von dort mit einem Glasobjektträger abgenommen (Abb. 9).

Eine einstündige Trocknung bei Raumtemperatur garantierte eine genügende Fixierung des Präparats für die sich anschließende histochemische Färbeprozedur.

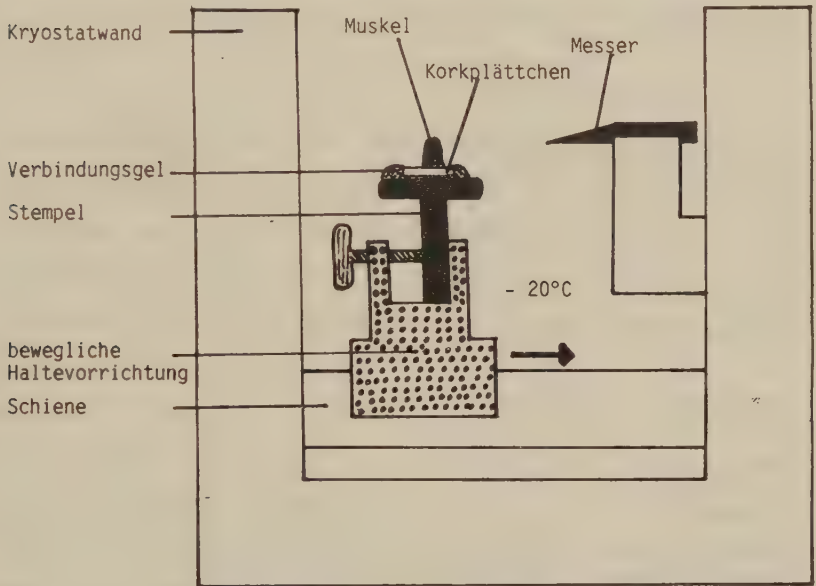


Abb. 9: Herstellung der Gewebsschnitte im Kryostat.

2.4.2. Darstellung zweier verschiedener Fasertypen und der Kapillaren in den Muskelquerschnitten

Jeder Muskel besteht aus verschiedenen Fasern, die verschiedene morphologische, biochemische und physiologische Eigenschaften aufweisen. Von zahlreichen Autoren sind verschiedene Einteilungsmöglichkeiten der Fasertypen beschrieben worden (Abb. 10).

Grundlage der Unterscheidung	Autor	Bezeichnung der verschiedenen Fasertypen		
Elektronenmikroskop	Gauthier (26)	Intermediär	Rot	Weiß
	Stein & Padykula (81)	B	C	A
	Romanul (69)	III	II	I
multiple histochem. Eigenschaften	Henneman & Olson (36)	C	B	A
	Kugelberg & Edström (50)	C	B	A
Myoglobingehalt	James (45)	-	Hoch	Niedrig
Stoffwechsel	Dubowitz & Pearse (16)	I (Oxidativ)	II (Oxid./Gly.)	II (Glykolyt.)
Kontraktionsgeschwindigkeit	Olson & Swett (61)	Langsam	Schnell	Schnell
Kontraktionsgeschwindigkeit und Stoffwechsel	Peter (63)	S0 (Langsam und oxidativ)	FOG (Schnell und oxid./gly.)	FG (Schnell und glykolyt.)
Kontraktionsgeschwindigkeit und Ermüdbarkeit	Burke (11)	S (Langsam und nicht ermüdbar)	FR (Schnell und mäßig ermüdbar)	FF (Schnell und stark ermüdbar)
ATPase-Aktivität	Engel (21)	I (Niedrig)	II (Hoch)	II (Hoch)
ATPase-Stabilität	Guth & Samaha (30)	Säurestabil	Säurelabil	Säurelabil
ATPase-Aktivität bei verschiedenen pH-Werten	Brooke & Kaiser (10)	I	IIA	IIB

Abb. 10: Einteilungsmöglichkeiten der Muskelfasern.

Die aus den verschiedenen Eigenschaften sich ergebende Verschiedenartigkeit der Muskelfasern macht eine nach Fasertypen differenzierte Betrachtung des Einflusses von Immobilisation und Elektrotherapie notwendig.

Die derzeit gebräuchlichste Methode zur Faserklassifizierung teilt die Muskelfasern nach ihrer ATPase-Aktivität ein.

Danach werden zwei Fasertypen unterschieden, der sogenannte Typ I mit niedriger und der Typ II mit hoher ATPase-Aktivität. Diese Differenzierung, die auch in der modernen klinischen Diagnostik Verwendung findet, wurde bei den vorliegenden Untersuchungen angewandt.

2.4.2.1. Färbeprozedur

Ein histochemisches Verfahren, bei dem beide Fasertypen verschieden angefärbt werden und zusätzlich die Kapillaren zur Darstellung kommen, ist 1969 von Guth & Samaha beschrieben (30) und 1970 ergänzt worden (31).

Diese Färbung, bei der ATP als Substrat verwendet wird (62), ist für die hier erforderliche Auswertung ideal geeignet, da sie beide Fasertypen und die Kapillaren in einem Gewebeschnitt darstellt.

Das Prinzip dieser Färbung besteht darin, daß Muskelschnitte mit ATP und Calcium bei einem pH-Wert von 9,4 inkubiert werden, worauf die myofibrilläre ATPase des Muskelgewebes und die alkalische Phosphatase der Kapillarendothelien (56) vom ATP jeweils ein Phosphat abspalten, das sich mit Calcium zu Calciumphosphat verbindet. Letzteres ist bei

einem alkalischen pH-Wert unlöslich, also am Ort der Enzymaktivität lokalisiert. Mittels Kobaltchlorid und Ammoniumsulfid wird Calciumphosphat in Kobaltphosphat und schließlich in das schwarzbraun erscheinende, unlösliche Kobaltsulfid umgewandelt.

Beide Fasertypen unterscheiden sich durch ihre ATPase. Der Typ I besitzt eine säurestabile und alkalilabile, der Typ II eine alkalistabile und säurelabile ATPase (30).

Aufgrund dieser qualitativen Unterschiede der ATPase ist es möglich, mit einem geeigneten pH-Wert in der Vorinkubation die ATPase eines Fasertyps weitgehend zu inaktivieren, wodurch dieser im Gegensatz zum Fasertyp mit der aktiven ATPase heller dargestellt wird. Bei dem hier verwendeten Vorinkubations-pH-Wert von 4,35 wird also der Fasertyp I dunkel (säurestabile ATPase) und der Typ II hell (säurelabile ATPase) dargestellt (siehe Abbildung 11).



Abb. 11: Ausschnitt aus einem Muskelpräparat, das mit der ATPase-Färbung bei einer Vorinkubation von pH 4,35 angefärbt wurde (Typ I ist dunkel, Typ II hell, K = Kapillaren).

Vorgehen bei der ATPase-Färbung nach Guth & Samaha:

Die getrockneten Gewebeschnitte wurden zuerst 10 Minuten lang bei Raumtemperatur in Lösung A ($\text{pH} = 4,35$) vorinkubiert. Anschließend mußten die Objektträger mit Löschpapier getrocknet werden.

Danach erfolgte ein zweimaliges Auswaschen für je eine Minute in 0,1 M Tris-Puffer (Lösung B) und abermaliges Entwässern mit Löschpapier.

Die Hauptinkubation der Präparate in Lösung C ($\text{pH} = 9,4$) fand bei 37°C im Brutschrank statt und dauerte 25 Minuten. Nun wurden sie jeweils 30 Sekunden lang in drei Gefäßen mit 1%iger Kalziumchloridlösung (Lösung D) ausgewaschen.

Nach Entwässern mit Löschpapier wurden die Schnitte 3 Minuten lang in 2%ige Kobaltchloridlösung (Lösung E) gestellt.

Im Anschluß daran wurden die Objektträger nacheinander in vier Gefäßen mit Barbitursäurepuffer (Lösung F) gründlich ausgewaschen. Der pH -Wert im ersten Gefäß betrug 9,8 und fiel in Intervallen von jeweils 0,1 auf einen Wert von 9,5 im letzten Gefäß ab.

Nach dem Entwässern mit Löschpapier wurden die Präparate für drei Minuten in Ammoniumsulfidlösung (Lösung G) gegeben und anschließend 4 Minuten lang unter fließendem Leitungswasser gereinigt.

Vor dem Eindecken wurden die Objektträger in einer aufsteigenden Alkoholreihe (70%, 80%, 96%, 100%) von Wasserrückständen befreit und in Xylol gegeben.

Nach Aufbringen eines Tropfens Enthelan (Schnelleindeckmittel) wurden die Schnitte schließlich mit Deckgläsern luftdicht abgedeckt.

Herstellen der Lösungen A - G:

Lösung A: CaCl_2 (0,18M): 100 ml (1,998 g auf 100 ml H_2O)

Eisessigsäure: 3 ml

Aqua dest.: 900 ml

pH-Wert auf 4,35 einstellen (mit 2n-KOH)

Lösung B: Tris (MW=121): 12,1 g

CaCl_2 (0,18M): 100 ml (1,998 g auf 100 ml H_2O)

Aqua dest.: 900 ml

pH-Wert auf 7,8 einstellen (mit 1-bis 6n-HCL)

Anm.: Tris = Tris(hydroxymethyl)aminomethan

Lösung C: 2-amino-2-methyl-1-propanol(1,5M):3,35 ml

CaCl_2 (0,18M): 5 ml

KCl (MW=75): 185 mg

ATP, Disodium: 76 mg
(MW=551,2)

Diese 4 Reagenzien wurden gemischt, filtriert und anschließend wurde die Lösung mit Aqua dest. auf ein Volumen von 50 ml gebracht.

Der pH-Wert wurde mit 2n-HCl auf 9,4 eingestellt.

Anschließend wurde die Hauptinkubationslösung in ein vorgewärmtes Gefäß gegeben, um zu vermeiden, daß die Zeitspanne bis zum Erreichen der benötigten Endtemperatur von 37°C zu groß wird.

Lösung D: CaCl_2 (MW=147): 10 g
Aqua dest.: 1000 ml

Lösung E: CoCl_2 (MW=238): 4 g
Aqua dest.: 200 ml

Lösung F: Na-barbiturat: 1,648 g
Aqua dest.: 800 ml

Diese Lösung wurde auf 4 Gefäße à 200 ml verteilt
und mit 0,2n-HCl auf pH-Werte von 9,8 - 9,7
- 9,6 und 9,5 eingestellt.

Lösung G: 20%iges Ammoniumsulfid: 2 ml
Aqua dest.: 198 ml

2.4.2.2. Vorversuche

Guth & Samaha verwendeten 1969 als Auswaschlösung (Lösung F) das 2-amino-2-methyl-1-propanol wegen seiner guten Pufferkapazität bei pH 9,4. Die Anwendung dieses Puffers verursachte jedoch in zahlreichen von uns durchgeführten Vorversuchen ständig fest auf dem Objektträger haftende Schmutzablagerungen, welche eine korrekte Kapillarzählung nicht mehr gewährleisten. Es wurde deshalb in der vorliegenden Arbeit auf den aus der herkömmlichen ATPase-Färbung (62,15) bekannten Barbitursäurepuffer zurückgegriffen. Der Nachteil seiner geringen Pufferkapazität bei pH 9,4 wurde durch Auswaschen in vier Gefäßen mit

absteigenden pH-Werten ausgeglichen. Die ersten drei Auswaschungen bei pH 9,8 bis 9,6 dienten der groben Abpufferung der sauren Valenzen (von der vorherigen CoCl_2 -Behandlung stammend). Die länger dauernde Hauptauswaschung im 4. Gefäß bei pH = 9,5 änderte schließlich diesen pH-Wert auf optimale 9,4.

Neben dieser Modifizierung der Färbung von Guth & Samaha wurden eine Reihe anderer Vorversuche durchgeführt. So wurden Färbungen von Präparaten mit Schnittdicken von 5, 10, 15, 20 und 25 μm hergestellt und bezüglich ihrer Auswertbarkeit miteinander verglichen. Schnitte mit 10 μm Dicke zeigten die besten Ergebnisse, wenn auch die qualitativen Unterschiede relativ gering waren. Weiterhin ergab eine Verlängerung der Vorinkubationsdauer von 10 auf 20 bzw. 45 Minuten keine Änderung im Färbeverhalten. Dasselbe galt auch für die Ausdehnung der Hauptinkubationszeit von 25 Minuten auf maximal 1 Stunde.

Die Kapillardarstellung bei der schließlich in dieser Arbeit angewandten, modifizierten ATPase-Färbung nach Guth & Samaha wurde letztendlich noch mit zwei anderen, häufig gebrauchten Kapillarfärbemethoden verglichen: mit der ATPase-Färbung nach Dubowitz & Brooke 1973 (Vorinkubation bei pH = 3,8) und mit der alkalischen Phosphatase-Reaktion (68) bei verschiedenen Schnittdicken (10, 15 und 20 μm) und Inkubationszeiten (1, 1 1/2 und 2 Stunden). In Übereinstimmung mit anderen Arbeiten (58,78) ergaben sich bei diesen Färbemethoden keine nennenswerten Unterschiede bezüglich der Zahl der angefärbten Kapillaren. Auch durch das häufig angewandte Verfahren der Tuscheinjektion ergibt sich keine bessere Kapillardarstellung (44,65).

2.5. Auswertung der gefärbten Muskelpräparate

Wie bei anderen Autoren (3) zeigt sich auch in unseren Untersuchungen nach Anfärbung des gesamten Muskelquerschnitts mit der ATPase-Reaktion nach Guth & Samaha eine Aufgliederung des M. gastrocnemius in verschiedenen Regionen (Abb. 12). Diese unterscheiden sich durch ihre in nebenstehender Tabelle wiedergegebene Faserzusammensetzung (39).



Abb. 12: Darstellung der verschiedenen Regionen des M. gastrocnemius einschließlich des M. plantaris (p). Färbung des Präparates nach Guth & Samaha.

Region	Muskel	Typ I	Typ II
1	M. gastrocn.	0%	100%
2	"	5%	95%
3	"	25%	75%
p	M. plantaris	60%	40%

Tabelle: Faserzusammensetzung der verschiedenen Regionen
des M. gastrocnemius und des M. plantaris
(vgl. Abb. 12).

2.5.1. Herstellen von Photographien

Zur Bestimmung von Faserdurchmessern und Kapillarzahlen wurden mit einer Kleinbildkamera, die an das Mikroskop UnivaR der Firma Reichert angeschlossen war, Photographien der gefärbten Muskelquerschnitte hergestellt. Zur Myometrie wurden die so erhaltenen Negative auf eine Fläche mit $24 \times 16 \text{ cm}^2$ projiziert. Für die Kapillarzählung wurden Abzüge mit dem selben Format hergestellt. In beiden Fällen wurde so eine Muskelfläche von $0,427 \text{ mm}^2$ abgebildet, was einer 300-fachen Vergrößerung entsprach.

Um jeweils vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, wurden sämtliche Photographien zur Kapillarzählung aus Region 1 und alle Negative zur Myometrie aus Region 3 gemacht.

2.5.2. Kapillarzählung

Es wurden pro Muskel 2 Photos aus der Region 1 ausgewertet. Auf diesen beiden Bildern, die eine Muskelfläche von $0,854 \text{ mm}^2$ darstellten, waren im Durchschnitt 250 - 500 Fasern mit den dazugehörigen Kapillaren abgebildet. Dieser Umfang der Auswertung wird allgemein als ausreichend angesehen (29,38,56) um zuverlässige Ergebnisse zu erhalten.

Größere Blutgefäße dürfen bei der Kapillarzählung nicht mitgezählt werden. Durch den für Skelettmuskeln schon häufig beschriebenen, geschlängelten Verlauf der Kapillaren (49,51,55,67,74,82) werden manchmal Kapillaren längs angeschnitten. Dies wurde bei der Zählung als eine Kapillare gewertet (2).

Um den Wert der Kapillardichte (Kapillaren/ mm^2) zu erhalten, mußte die Summe der auf beiden Photos gezählten Kapillaren mit dem Faktor 1,171 multipliziert werden.

Die Kapillarisierung (Kapillaren/Faser) ergibt sich, wenn man die Summe der auf beiden Photos gezählten Kapillaren durch die Anzahl der auf den gleichen Bildern abgebildeten Fasern teilt.

2.5.3. Myometrie

In vielen Arbeiten wurde der Einfluß verschiedenster Parameter auf die Muskulatur nur durch Messung des Muskelumfangs (48,71) oder des Muskelgewichts (5,6,28,85) untersucht.

In der vorliegenden Arbeit konnte der Einfluß von Immobilisation und Elektrotherapie durch Bestimmung der Muskelfaserdurchmesser sehr viel genauer quantifiziert werden. Dazu wurden pro M. gastrocnemius 3 Photographien aus der Region 3 ausgewertet. Diese Region wurde ausgewählt, da sie innerhalb des M. gastrocnemius das vergleichsweise ausgeglichenste Fasertypenverhältnis aufweist (Typ I: Typ II = 1:3). Dadurch standen auch vom seltener vorkommenden Typ I genügend Fasern für die Auswertung zur Verfügung. Diese erfolgte mit dem Kontron-Planimeter. Dabei wurde jeder einzelne Durchmesser der projizierten, polygonalen Muskelfasern mit einem Auswertestift abgefahren. Die so ermittelten Einzeldaten wurden im integrierten Rechner unter Berücksichtigung des Vergrößerungsfaktors in μm umgerechnet und als sogenanntes Histogramm im angeschlossenen Plotter graphisch ausgegeben. In diesem Histogramm konnten 28 Faserklassen mit einem Intervall von $2,85 \mu\text{m}$ dargestellt werden. Gleichzeitig wurden in numerischer Form Mittelwert, Standardabweichung, Gesamtzahl der ausgezählten Faserdurchmesser und ihre Aufteilung in die beiden Fasertypen ausgedruckt.

Beim Abfahren der Faserdurchmesser mit dem Auswertestift ist zu beachten, daß nach Jerusalem (46) der reale Faserdurchmesser als die größtmögliche Senkrechte auf den längsten Durchmesser definiert ist. Damit ist es möglich, auch bei nicht exakt quer getroffenen Fasern verlässliche Resultate zu erhalten (Abb. 13).

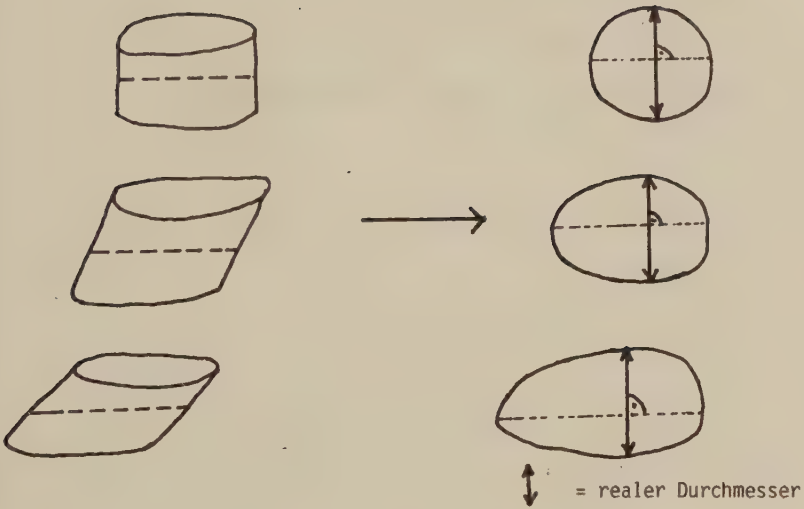


Abb. 13: Definition des realen Faserdurchmessers bei quergeschnittenen Muskelfasern nach Jerusalem.

2.6. Statistische Auswertung

2.6.1. Statistische Merkmale der Zahlengruppen

Von jeder Zahlengruppe wurde der Mittelwert $\bar{x}$, Standardabweichung S_{x_i} und Standardabweichung des Mittelwerts $S_{\bar{x}}$ (= einfacher mittlerer Fehler des zugehörigen Mittelwertes) errechnet.

Dabei gelten folgende Formeln:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$
$$S_{x_i} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$
$$S_{\bar{x}} = \frac{S_{x_i}}{\sqrt{n}}$$

x_i = einzelne absolute Werte

n = Anzahl der Werte in einer Gruppe

2.6.2. Signifikanzberechnung

Durch den Student-t-Test für die Differenz zweier Mittelwerte aus unverbundenen Stichproben kann die Signifikanz errechnet werden. Es wird eine Prüfgröße t ermittelt für die folgende Formel gilt:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{S_{x_{i,1}}^2 (n_1 - 1) + S_{x_{i,2}}^2 (n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}}$$

Das zugehörige Rechenverfahren (72) wurde auf einem TI-Rechner SR 52 einprogrammiert.

Jedem t -Wert kann aus einer Tabelle (25) in Abhängigkeit von den Freiheitsgraden ($= n_1 + n_2 - 2$) ein p -Wert für den Grad der Irrtumswahrscheinlichkeit zugeordnet werden. Für statistisch signifikante Unterschiede zwischen zwei Gruppen wurden drei verschiedene Wahrscheinlichkeitsgrade festgelegt:

$0,01 < p \leq 0,05$	schwach signifikant
$0,001 < p \leq 0,01$	signifikant
$p \leq 0,001$	hoch signifikant

Bei diesen drei Fällen liegt die Irrtumswahrscheinlichkeit bei 5%, 1% bzw. 0,1%. Dies bedeutet, es kann jedes 20ste, 100ste bzw. 1000ste als signifikant erklärte Ergebnis auch zufällig zustande gekommen sein. Diese drei Signifikanzschranken sind Grundlage aller im Ergebnisteil aufgeführten Signifikanzangaben.

3. Ergebnisse

3.1. Tiergewicht

Vor Beginn und nach Beendigung der Versuche wurden die Gewichte aller Tiere bestimmt.

In der nachstehenden Übersicht sind die Mittelwerte der Tiergewichte aller 4 Versuchsgruppen am Anfang und am Ende der Behandlung dargestellt.

Gruppe	n	AG	EG	dG	d%
I	21	195	233	38	19,5
II	19	198	240	42	21,2
III	15	189	230	41	21,7
IV	14	187	274	87	46,5

n = Anzahl der Tiere pro Gruppe

AG = Mittelwert der Anfangsgewichte in Gramm

EG = Mittelwert der Endgewichte in Gramm

dG = EG minus AG (absolute Zunahme)

$$d\% = 100 \times \left(\frac{EG}{AG} - 1 \right) \text{ (relative Zunahme in Prozent)}$$

Bei den Tieren der Gruppe I (Immobilisation und Schwellstromtherapie) war eine Gewichtszunahme von durchschnittlich 195 g auf 233 g festzustellen. Dies bedeutet eine prozentuale Zunahme von 19,5%. Die Tiere der Gruppe II (Immobilisation und Gleichstromtherapie)

nahmen während der Versuchsdauer um 21,2% zu, die Tiere der Gruppe III (Immobilisation, keine Therapie) um 21,7%.

Es war also bei allen drei Gruppen, bei denen die rechte hintere Extremität immobilisiert worden war, eine Zunahme des Körpergewichts um circa 20% zu beobachten.

Im Gegensatz dazu trat bei den Tieren der Gruppe IV (keine Immobilisation, keine Therapie) ein Gewichtsanstieg von anfänglich 187 g auf 274 g am Ende des Versuchs auf. Dies ergibt eine Gewichtszunahme von 46,5%.

3.2. Muskelgewicht

Die Bestimmung des Muskelgewichts ist ein altes und einfach zu ermittelndes Kriterium das von vielen Untersuchern zur Beurteilung einer Muskelatrophie verwendet wurde. Sie wurde in dieser Arbeit zur Ergänzung der zeitgemäßen histometrischen Messung der Muskelfaserdurchmesser durchgeführt.

Nachstehend sind die Mittelwerte der Muskelgewichte aller vier Gruppen, getrennt nach linkem und rechtem Bein, übersichtsmäßig dargestellt (intraindividueller Vergleich).

Gruppe	n	L.B.		R.B.		d%
		$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	
I	21	1276	57,8	915	30,3	-28,3
II	19	1359	39,1	866	29,7	-36,3
III	15	1243	51,1	840	36,6	-32,4
IV	22	1454	34,7	1454	34,7	0

Anmerkung: Bei der Gruppe IV unterschieden sich die Gewichte der rechten und linken Mm. gastrocnemii nicht und wurden deshalb nicht getrennt aufgeführt.

n = Anzahl der Einzelwerte

LB = Linkes Bein; RB = Rechtes Bein

$\bar{x}$ = Mittelwert des Muskelgewichts in Milligramm

$S_{\bar{x}}$ = Standardabweichung des Mittelwerts in Milligramm

$$d\% = 100 \times \left(\frac{\bar{x}_{RB}}{\bar{x}_{LB}} - 1 \right) \text{ (relative Abnahme in Prozent)}$$

Im folgenden sind die mittleren Muskelgewichte (in Milligramm) der Gruppen I, II und III jeweils denen der sogenannten Nullkontrollgruppe IV (keine Immobilisation, keine Elektrotherapie) gegenübergestellt (interindividueller Vergleich).

	Gruppe I	Gruppe IV	d%
L.B.	1276	1454	-12,2
R.B.	915	1454	-37,1
	Gruppe II	Gruppe IV	
L.B.	1359	1454	- 6,5
R.B.	866	1454	-40,4
	Gruppe III	Gruppe IV	
L.B.	1243	1454	-14,5
R.B.	840	1454	-42,2

LB = Linkes Bein; RB = Rechtes Bein

$$d\% = 100 \times \left(\frac{\bar{x}_{\text{Gruppe I, II oder III}}}{\bar{x}_{\text{Gruppe IV}}} - 1 \right) \text{ (relative Verringerungsrate in Prozent)}$$

3.2.1. Ausmaß der Atrophie

Um festzustellen, ob mit der hier angewandten Immobilisationsmethode eine Atrophie des M. gastrocnemius erzeugt werden kann, gibt es zwei verschiedene Betrachtungsmöglichkeiten. Zunächst kann man intraindividuell vergleichen, i.e. das mittlere Muskelgewicht der rechten Beine der Gruppe III (Immobilisation, keine Therapie) mit dem der linken Beine derselben Gruppe (siehe vorstehende Tabelle). Zweitens kann man interindividuell vergleichen, i.e. den Mittelwert des rechten und des linken Muskels der Gruppe III mit dem der Gruppe IV (keine Immobilisation, keine Therapie). Da mittels des interindividuellen Vergleichs auch Aussagen über das Verhalten des kontralateralen Muskels getroffen werden können, soll diese Art des Vergleichs im Vordergrund der nun folgenden Ausführungen stehen. Der rechte M. gastrocnemius der nur immobilisierten Tiere (= Gruppe III) wog im Mittel 840 mg. Der Mittelwert des Muskelgewichts bei der Gruppe IV (keinerlei Manipulation) betrug hingegen 1454 mg. Dies bedeutet eine Abnahme des Muskelgewichts in der Gruppe III, rechts um 42,2%. Diese Zahlen belegen eine hochsignifikante Atrophie des immobilisierten Muskels.

Beim kontralateralen Bein steht dem Mittelwert der Nullkontrollgruppe

IV von 1454 mg ein mittleres Muskelgewicht von 1243 mg in der Gruppe III gegenüber. Dies bedeutet auch für das kontralaterale Bein eine Abnahme des Muskelgewichts, und zwar um 14,5%.

3.2.2. Auswirkungen der Schwellstromtherapie

Um den Einfluß dieser Therapieform auf das Muskelgewicht zu ermitteln, wurde zuerst das Gewicht des rechten, immobilisierten Muskels der Gruppe I (Immobilisation, Schwellstromtherapie) mit dem des Muskels aus der Gruppe IV verglichen. Es zeigte sich eine hochsignifikante Abnahme des Muskelgewichts des rechten Beines der Gruppe I (915 mg) gegenüber dem Kontrollwert aus der Gruppe IV (1454 mg) von 37,1%. Diese Verringerungsrate des immobilisierten und zusätzlich schwellstromstimulierten Muskels unterscheidet sich nicht statistisch signifikant von jener, die bei den nur immobilisierten Muskeln gefunden wurde (42,2%). Dieses Ergebnis wird bestätigt, wenn man den Mittelwert der rechten Muskelgewichte der Gruppe I (915 mg) dem der rechten Muskelgewichte der Gruppe III (840 mg) direkt gegenüberstellt. Auch hier ergibt sich kein statistisch signifikanter Unterschied. Beim kontralateralen Muskel der Gruppe I ergibt sich ein mittleres Gewicht von 1276 mg. Dies bedeutet, verglichen mit dem Wert der Gruppe IV (1454 mg) eine Abnahme um 12,2%. Dieser Wert gleicht sehr dem beim kontralateralen Muskel der Gruppe III (14,5%). Der Unterschied ist nicht signifikant.

3.2.3. Auswirkungen der Therapie mit galvanischem Strom

Der Einfluß dieser Behandlungsart wurde an den Tieren der Gruppe II geprüft. Das Muskelgewicht der rechten, immobilisierten Beine wies einen Mittelwert von 866 mg auf. Im Vergleich mit dem Mittelwert der Muskelgewichte aus der Gruppe IV (keinerlei Manipulation) ergibt sich eine hochsignifikante Abnahme des Muskelgewichts um 40,4%. Diese Verringerungsrate der immobilisierten und zusätzlich gleichstrombehandelten Muskeln unterscheidet sich nicht statistisch signifikant von der Verringerungsrate der nur immobilisierten Muskeln (42,2%). Daß die Gleichstrombehandlung keine Auswirkungen auf das Atrophieverhalten zeigte, sieht man auch, wenn man den Wert der rechten Muskelgewichte der Gruppe II (866 mg) direkt mit dem der rechten Beine der Gruppe III (840 mg) vergleicht. Auch hier ergibt sich kein statistisch signifikanter Unterschied.

Beim kontralateralen linken Bein der Gruppe II ergibt sich ein mittleres Muskelgewicht von 1359 mg. Der Unterschied zum Wert der Gruppe IV (1454) betrug 6,5%. Eine statistisch signifikante kontralaterale Atrophie war also hier nicht mehr nachzuweisen.

Im folgenden sind die Ergebnisse bezüglich des Muskelgewichts graphisch dargestellt und die statistischen Vergleiche in einem Diagramm zusammengefaßt. Die Werte der einzelnen Tiere sind im Anhang aufgeführt.

3.2.4. Statistik

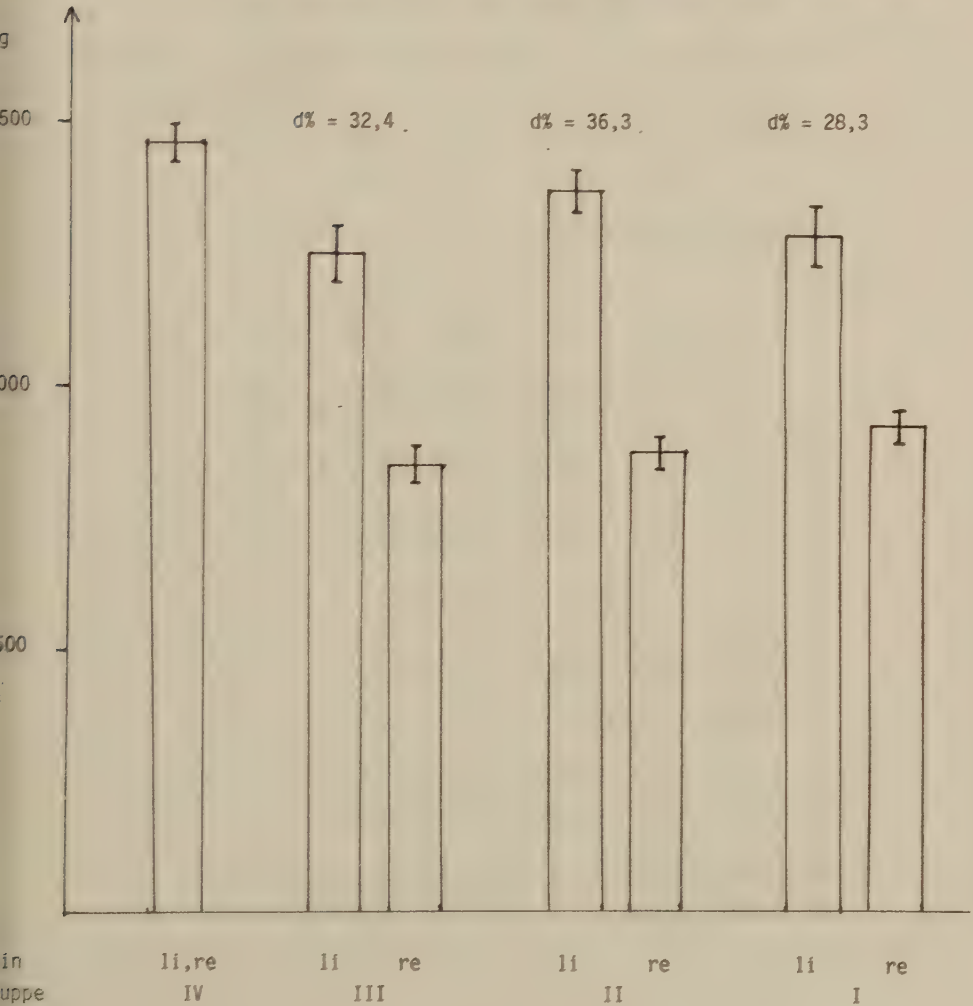
Darstellung der Mittelwertvergleiche verschiedener Gruppen anhand ihrer t-Werte (rechts oben) und p-Werte (links unten). Die Begriffe sind unter 2.6. erklärt.

$\bar{x}$	1276	915	1359	866	1243	840	1454
$S_{\bar{x}}$	57,8	30,3	39,1	29,7	51,1	36,6	34,7
n	21	21	19	19	15	15	22
Gruppe I	I	II	II	III	III	IV	
Bein	li.	re.	li.	re.	li.	re.	li., re.
I	li.	5.52					-2.68
	re.	0.001				1.58	-11.65
II	li.		10.06				-1.83
	re.		0.001			0.54	-12.67
III	li.					6.39	-3.56
	re.	n.s.		n.s.	0.001		-11.83
IV	li.	0.05	0.001	n.s.	0.001	0.01	0.001
	re.						

Zwischen den Werten der linken und rechten Mm. gastracnemii der Nullkontrollgruppe IV bestand kein Unterschied.

3.2.5. Graphische Darstellung

Es sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen der 4 Versuchsgruppen, getrennt nach linkem und rechtem Muskel abgebildet.



3.3. Muskelfaserdurchmesser

Mit der modernen histometrischen Messung der Muskelfaserdurchmesser war eine sehr genaue Bestimmung des Atrophiegrades des M. gastrocnemius möglich.

Im folgenden sind die Ergebnisse der 4 Gruppen, getrennt nach Muskelfasertyp I und II, dargestellt. Der Wert d% ist Ausdruck des intraindividuellen Vergleichs, i.e. der Gegenüberstellung der Mittelwerte für den linken und rechten Muskel innerhalb einer Gruppe.

Gruppe	n	Fasertyp	Links $\bar{x}$ $S_{\bar{x}}$	Rechts $\bar{x}$ $S_{\bar{x}}$	d%
I	21	I	40,46 $\pm$ 8,05	32,00 $\pm$ 7,56	- 20,9
		II	36,05 $\pm$ 7,60	32,74 $\pm$ 7,70	- 9,2
II	19	I	39,39 $\pm$ 8,71	28,29 $\pm$ 6,84	- 28,2
		II	35,92 $\pm$ 7,91	31,44 $\pm$ 7,83	- 12,5
III	15	I	42,80 $\pm$ 9,62	29,33 $\pm$ 7,09	- 31,5
		II	39,09 $\pm$ 8,88	30,93 $\pm$ 7,85	- 20,9
IV	14	I	37,56 $\pm$ 8,59	39,16 $\pm$ 9,59	
		II	39,62 $\pm$ 10,24	37,91 $\pm$ 8,48	

n = Anzahl der Tiere pro Gruppe

$\bar{x}$ = Mittelwert der Muskelfaserdurchmesser in μm

(1 μm = 10^{-3} mm)

$S_{\bar{x}}$ = Standardabweichung des Mittelwerts in μm

$d\% = 100 \times \left(\frac{\bar{x}_{\text{rechts}}}{\bar{x}_{\text{links}}} - 1 \right)$ (relative Abnahme in Prozent)

In der unten abgebildeten Tabelle sind die mittleren Muskelfaserdurchmesser (in μm) der Gruppen I, II und III jeweils denen der Nullkontrollgruppe IV gegenübergestellt (interindividueller Vergleich).

	Faser- typ	Gruppe I (n = 21)		Gruppe IV (n = 14)		d%
		$\bar{x}$	S_x	$\bar{x}$	S_x	
links	I	40,46 $\pm$	8,05	37,56 $\pm$	8,59	7,72
	II	36,05 $\pm$	7,60	39,62 $\pm$	10,24	- 9,01
rechts	I	32,00 $\pm$	7,56	39,16 $\pm$	9,59	-18,28
	II	32,74 $\pm$	7,70	37,91 $\pm$	8,48	-13,64

		Gruppe II (n = 19)		Gruppe IV (n = 14)		d%
		$\bar{x}$	S_x	$\bar{x}$	S_x	
links	I	39,39 $\pm$	8,71	37,56 $\pm$	8,59	4,87
	II	35,92 $\pm$	7,91	39,62 $\pm$	10,24	- 9,34
rechts	I	28,29 $\pm$	6,84	39,16 $\pm$	9,59	-27,76
	II	31,44 $\pm$	7,83	37,91 $\pm$	8,48	-17,07

		Gruppe III (n = 15)		Gruppe IV (n = 14)		d%
		$\bar{x}$	S_x	$\bar{x}$	S_x	
links	I	42,80 $\pm$	9,62	37,56 $\pm$	8,59	13,95
	II	39,09 $\pm$	8,88	39,62 $\pm$	10,24	- 1,34
rechts	I	29,33 $\pm$	7,09	39,16 $\pm$	9,59	-25,10
	II	30,93 $\pm$	7,85	37,91 $\pm$	8,48	-18,41

$$d\% = 100 \times \left(\frac{\bar{x}_{\text{Gruppe I, II oder III}}}{\bar{x}_{\text{Gruppe IV}}} - 1 \right) \quad \begin{array}{l} \text{(relative Änderungsrate} \\ \text{in Prozent)} \end{array}$$

3.3.1. Ausmaß der Atrophie

Es gibt zwei Möglichkeiten der Betrachtung, um festzustellen ob mit der angewandten Versuchsanordnung eine Immobilisationsatrophie zu erreichen war oder nicht. Man kann intraindividuell vergleichen, i.e. das immobilisierte rechte Bein dem kontralateralen (linken) Bein derselben Gruppe gegenüberstellen. Es ist jedoch auch möglich interindividuell zu vergleichen, i.e. das rechte, immobilisierte Bein der Gruppe III (Immobilisation, aber keine Therapie) dem rechten Bein der Gruppe IV (keine Immobilisation, keine Therapie) gegenüberzustellen. Außerdem kann man bei dieser zweiten Vergleichsmöglichkeit auch die linken Beine der Gruppen gegenüberstellen und so eine Aussage bezüglich des kontralateralen Effekts der Immobilisation treffen. Aufgrund der höheren Aussagekraft der letzteren Methode soll sie im folgenden im Vordergrund der Betrachtung stehen.

Beim Vergleich der Ergebnisse der Gruppe III (Immobilisation, keine Therapie) mit denen der Gruppe IV (keine Immobilisation, keine Therapie) wird deutlich, daß mit der angewandten Immobilisation eine Atrophie beider Muskelfasertypen erzielt werden konnte.

So betrug der mittlere Durchmesser für Fasertyp I der rechten Mm. gastrocnemii der Gruppe III 29,33 μm . Im Vergleich dazu ergab sich für die Gruppe IV rechts ein Mittelwert von 39,16 μm . Dies bedeutet eine relative Abnahme des Muskelfaserdurchmessers des Fasertyp I um 25,10% nach Immobilisation. Der Unterschied ist hochsignifikant.

Der mittlere Durchmesser der Fasern vom Typ II betrug bei den rechten

Mm. gastrocnemii der Gruppe III 30,93 μm . Demgegenüber steht bei der Gruppe IV rechts ein Mittelwert von 37,91 μm . Diese Verringerungsrate des Durchmessers von 18,41% für Fasertyp II nach Immobilisation war ebenfalls hochsignifikant.

Eine Gegenüberstellung der linken Mm. gastrocnemii der Gruppen III und IV erlaubt eine Aussage bezüglich des kontralateralen Effekts der Immobilisation. Hier beträgt der mittlere Durchmesser von Fasertyp II bei der Gruppe III 39,09 μm gegenüber 39,62 μm bei der Gruppe IV. Dies entspricht einer Verringerungsrate von 1,34%. Der Unterschied ist nicht signifikant.

Beim Fasertyp I jedoch steht einem mittleren Durchmesser von 37,56 μm bei der Gruppe IV ein Wert von 42,80 μm bei der Gruppe III gegenüber. Die statistisch signifikante Zunahmerate beträgt 13,95%.

Durch die Immobilisation des rechten Beines wurde also nicht nur eine homolaterale Muskelfaseratrophie (Typ I: -25,10%, Typ II: -18,41%), sondern auch eine Hypertrophie des Fasertyp I im kontralateralen Muskel erreicht (+13,95%). Eine kontralaterale Hypertrophie des Fasertyp II konnte nicht nachgewiesen werden.

3.3.2. Auswirkungen der Schwellstromtherapie

Der mittlere Faserdurchmesser bei den immobilisierten rechten Muskeln der Gruppe I (Immobilisation, Schwellstromtherapie) betrug für Fasertyp I 32,0 μm . Im Vergleich mit dem Wert der Gruppe IV rechts (keine Immobilisation, keine Therapie) von 39,16 μm ergibt sich eine Verringerungsrate von 18,28%.

Für den Fasertyp II beträgt der mittlere Durchmesser der Gruppe I

rechts 32,74 μm gegenüber 37,91 μm bei der Gruppe IV rechts. Dies entspricht einer Verringerungsrate von 13,64%. Die Abnahme des Faserdurchmessers ist für beide Faserarten hochsignifikant.

Um nun den Einfluß der Schwellstromtherapie auf die Immobilisationsatrophie beurteilen zu können, muß man die Verringerungsraten der Durchmesser der Gruppe I (Immobilisation, Schwellstromtherapie) denen der Gruppe III (Immobilisation, keine Therapie) gegenüberstellen.

Für Fasertyp I betrug die Verringerungsrate der immobilisierten Muskeln 25,10%, die der immobilisierten und zusätzlich schwellstromstimulierten Muskeln 18,28%. Dies ergibt eine Differenz beider Verringerungsraten von 6,82%.

Beim Fasertyp II fand sich eine Verringerungsrate der nur immobilisierten Muskeln von 18,41% gegenüber 13,64% bei den immobilisierten und zusätzlich schwellstromstimulierten Muskeln. Die Differenz dieser Verringerungsraten beträgt 4,77%. Die Differenzen der Verringerungsraten der Gruppe I und Gruppe III sind für beide Fasertypen signifikant. Das Ausmaß der immobilisationsbedingten Reduzierung des Faserdurchmessers war also in den ruhiggestellten rechten Muskeln mit -25,10% (Typ I) bzw. -18,41% (Typ II) signifikant größer als in den schwellstromstimulierten immobilisierten Muskeln, wo die entsprechenden Werte bei -18,28% (Typ I) bzw. 13,64 (Typ II) lagen. Die Verminderung der Muskelatrophie war bei Fasertyp I mit rund 7% stärker ausgeprägt als bei Fasertyp II (5%). Am kontralateralen, nicht immobilisierten Muskel der schwellstromtherapierten Gruppe ergab sich insofern eine Änderung gegenüber den Werten der nicht immobilisierten Muskeln der Gruppe III (Immobilisation rechts, keine

Therapie), als daß der mittlere Durchmesser für Fasertyp II abnahm. Der Wert für Fasertyp I war in beiden Gruppen statistisch signifikant erhöht.

3.3.3. Auswirkungen der Therapie mit galvanischem Strom

In der Gruppe II, die mit galvanischem Strom (Gleichstrom) behandelt wurde, weisen die Muskelfaserdurchmesser der therapierten, rechten Beine einen Mittelwert von 28,89 μm für den Fasertyp I auf. Im Vergleich mit dem Wert der Gruppe IV rechts (keinerlei Manipulation) von 39,16 μm ergibt sich eine hochsignifikante Verringerungsrate von 27,76%. Beim Fasertyp II beträgt der mittlere Durchmesser für die Gruppe II rechts 31,44 μm gegenüber 37,91 μm bei den rechten Muskeln der Gruppe IV. Die entspricht einer ebenfalls hochsignifikanten Verringerungsrate von 17,07%.

Zur Beurteilung des Einflusses der Gleichstromtherapie auf die Immobilisationsatrophie müssen die Verringerungsraten der Muskelfasern der rechten Muskeln von Gruppe II mit denen der Gruppe III rechts (nur Immobilisation, keine Therapie) verglichen werden.

Für Fasertyp I betrug die Verringerungsrate bei den nur immobilisierten Muskeln -25,10%, die der immobilisierten und zusätzlich gleichstromstimulierten Muskeln -27,76%. Es ergab sich hier also kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen. Beim Fasertyp II betrug die Verringerungsrate bei den nur immobilisierten Muskeln -18,41%, die der immobilisierten und gleichzeitig gleichstromstimulierten Muskeln -17,07%. Auch hier war kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen

festzustellen.

Bei Betrachtung der Ergebnisse der Faserdurchmesser der kontralateralen, linken Muskeln der Gruppe II fiel auf, daß die bei der Gruppe III (Immobilisation, keine Therapie) festgestellte signifikante Hypertrophie des Fasertyp I (+13,95%) nicht mehr nachzuweisen war.

3.3.4. Zusammenfassung der Teilergebnisse

Hinsichtlich der Muskelfaserdurchmesser zeigten sich folgende Ergebnisse:

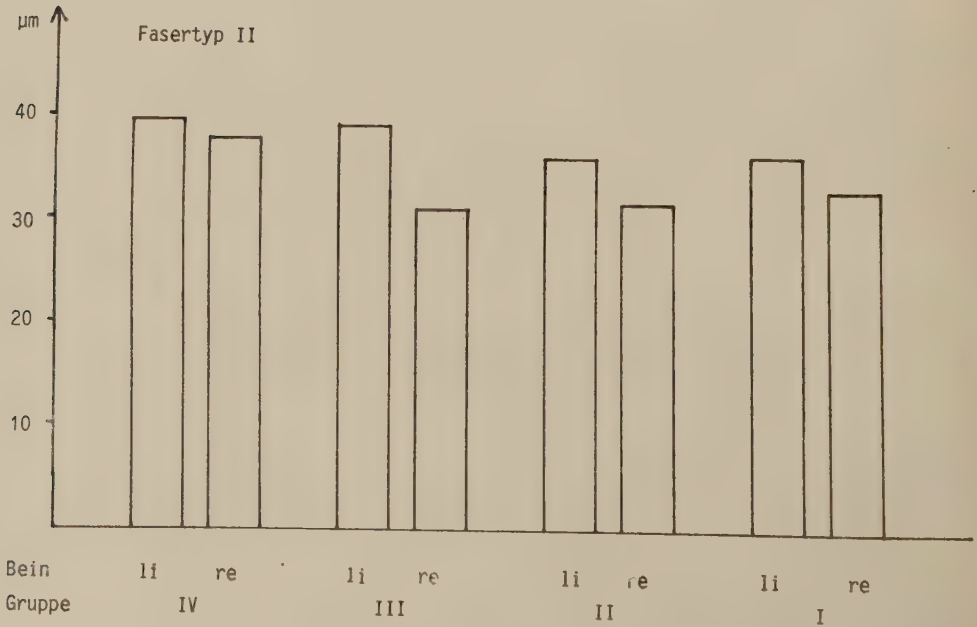
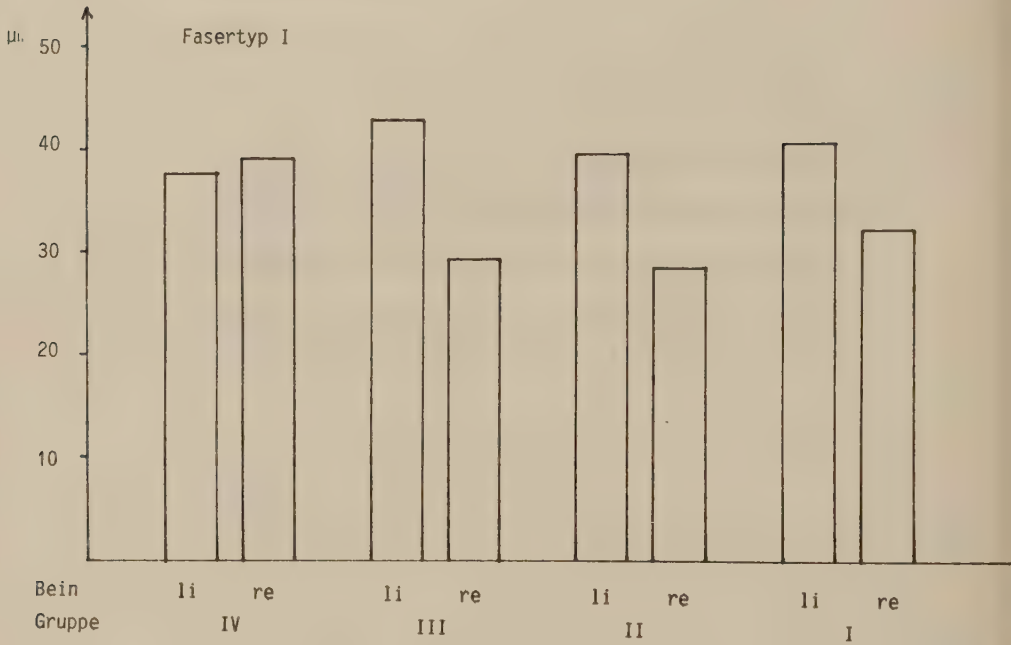
1. Eine hochsignifikante Atrophie des immobilisierten Muskels, wobei sich für den Fasertyp I eine stärkere Atrophie ergab als für den Fasertyp II.
2. Eine signifikante Hypertrophie des Fasertyp I beim kontralateralen (linken) Muskel, jedoch keine Veränderungen des Fasertyp II.
3. Eine signifikante Verminderung des Atrophieausmaßes bei beiden Faserarten durch die Anwendung von Schwellstromtherapie, wobei diese bei Fasertyp I stärker ausgeprägt war als bei Fasertyp II.
4. Keine statistisch signifikanten Änderungen des Atrophieausmaßes durch die Behandlung mit galvanischem Strom.

Auf den nächsten Seiten folgt eine graphische Veranschaulichung der Ergebnisse und die Abbildungen der 16 Summenhistogramme.

3.3.5. Statistik

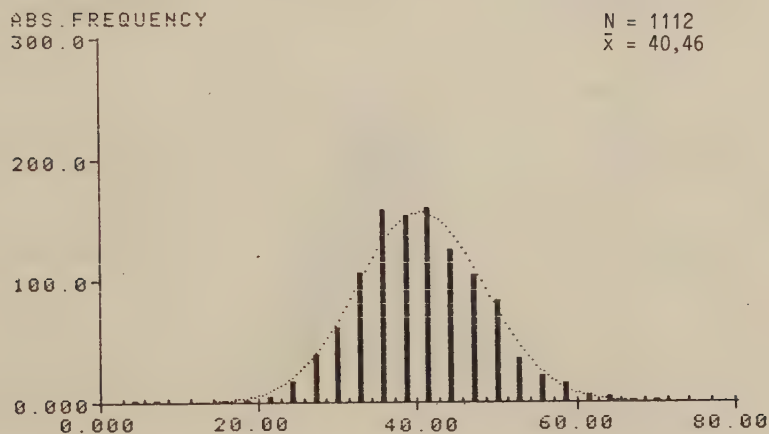
Die statistische Auswertung der Ergebnisse bezüglich der Muskelfaserdurchmesser wurde im Institut für Medizinische Balneologie und Klimatologie der Universität München vorgenommen. Diese erfolgte mittels einer Rechenanlage nach dem sogenannten einfachen t-Test-Verfahren. Die Einzelwerte können dort eingesehen werden.

3.3.6. Graphische Darstellung

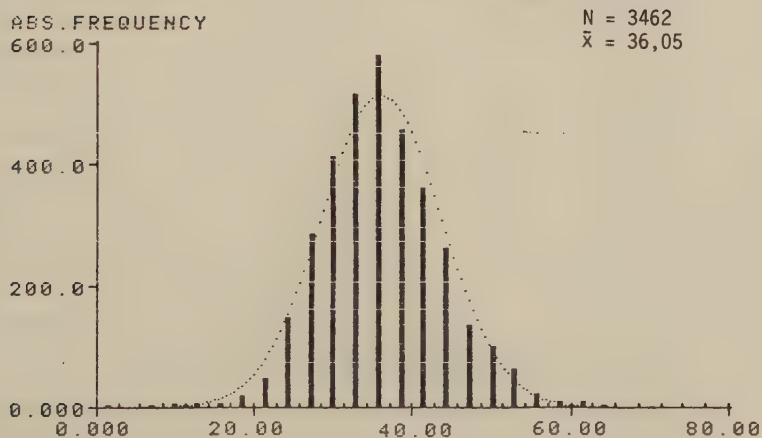


3.3.7. Summenhistogramme

Gruppe I, links
Fasertyp I



Fasertyp II

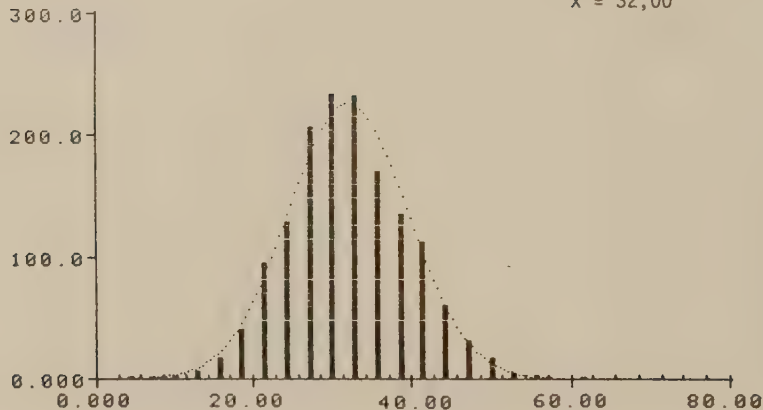


Gruppe I, rechts
Fasertyp I

ABS. FREQUENCY

$N = 1503$

$\bar{x} = 32,00$

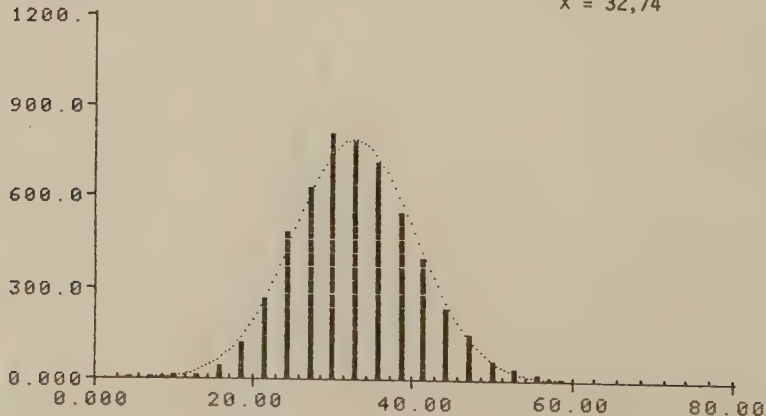


Fasertyp II

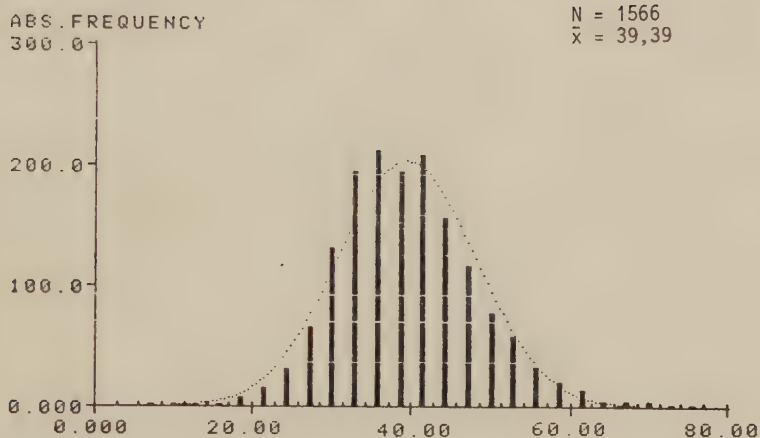
ABS. FREQUENCY

$N = 5342$

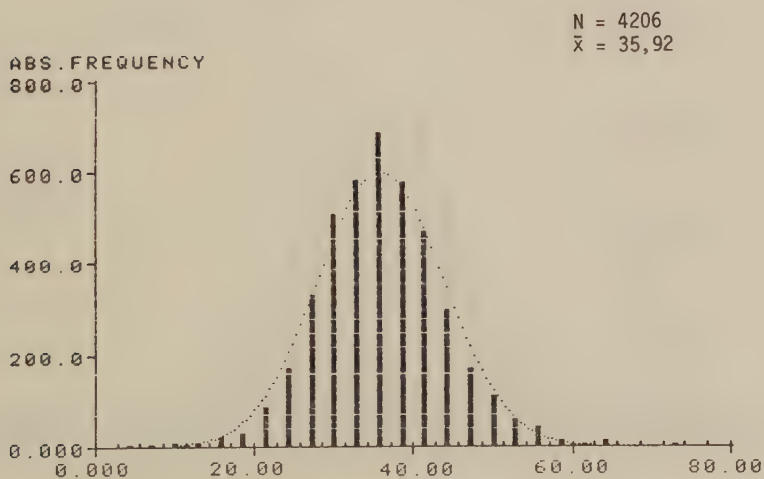
$\bar{x} = 32,74$



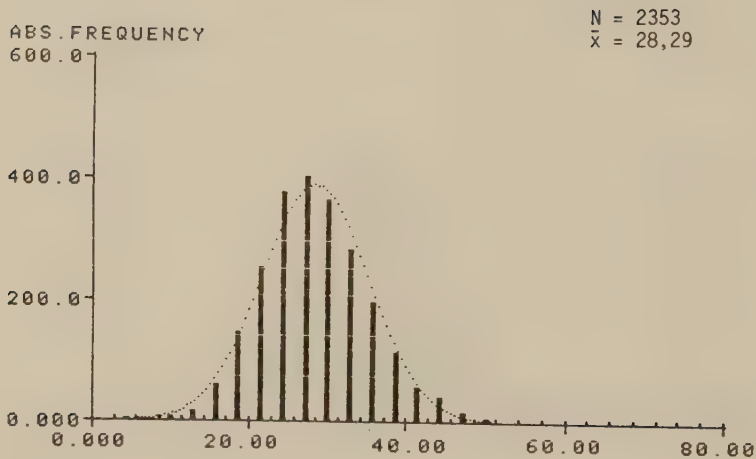
Gruppe II, links
Fasertyp I



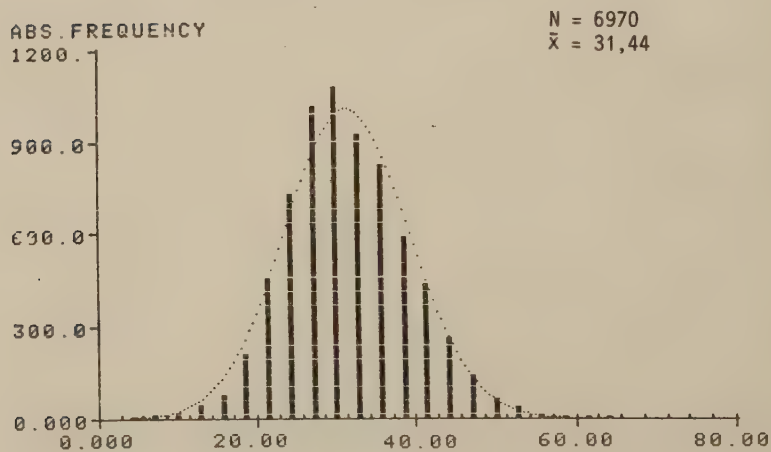
Fasertyp II



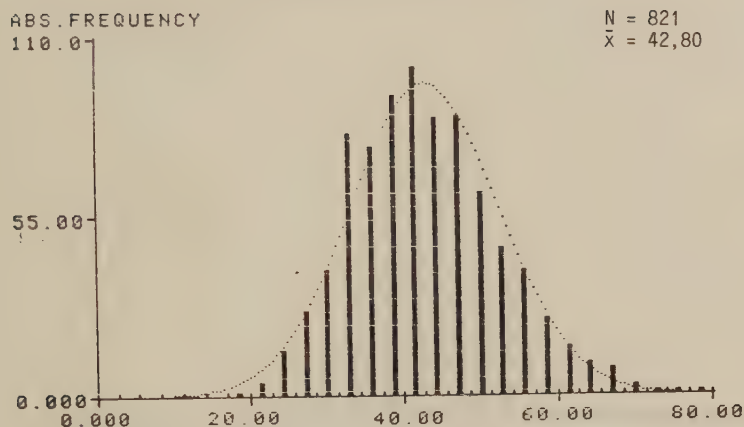
Gruppe II, rechts
Fasertyp I



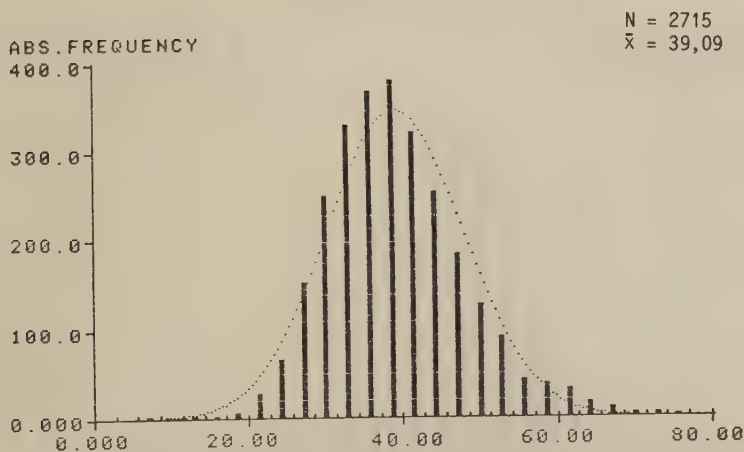
Fasertyp II



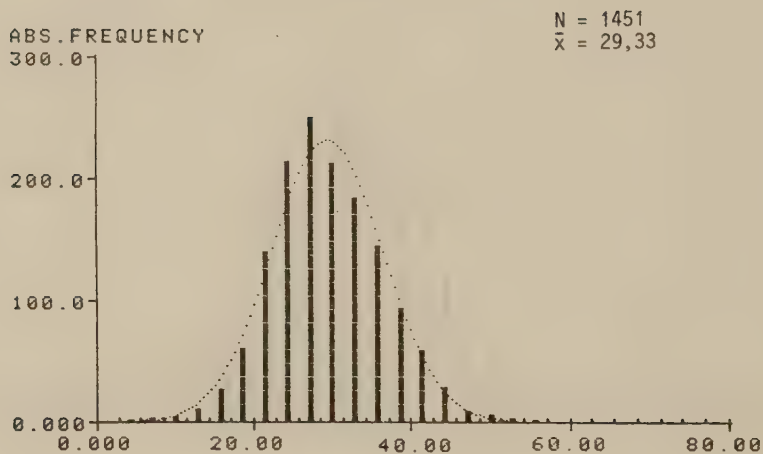
Gruppe III, links
Fasertyp I



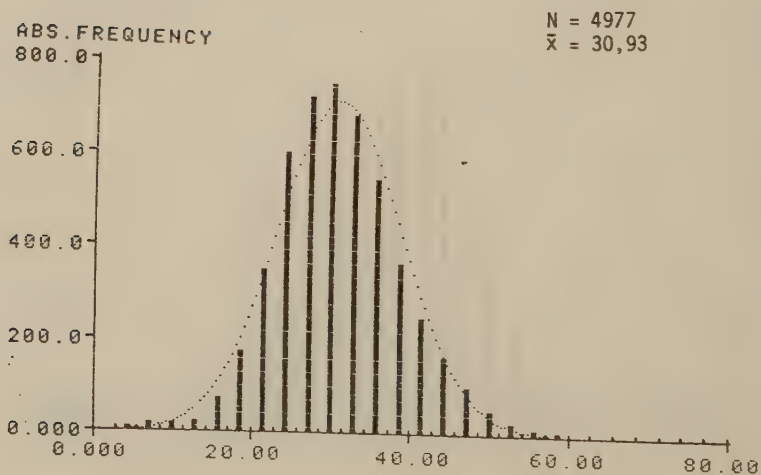
Fasertyp II



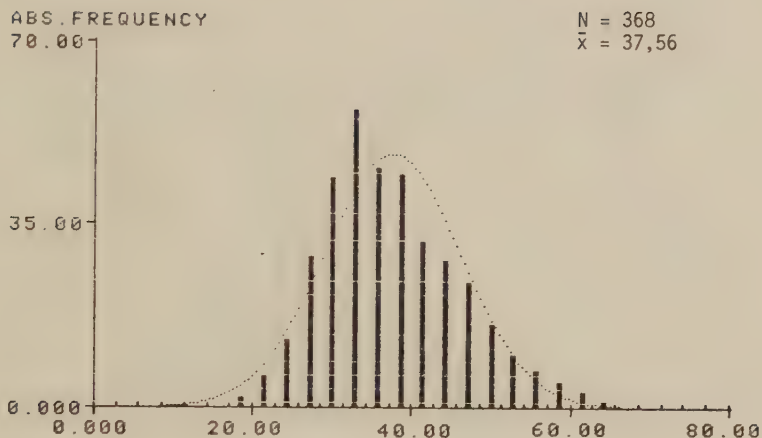
Gruppe III, rechts
Fasertyp I



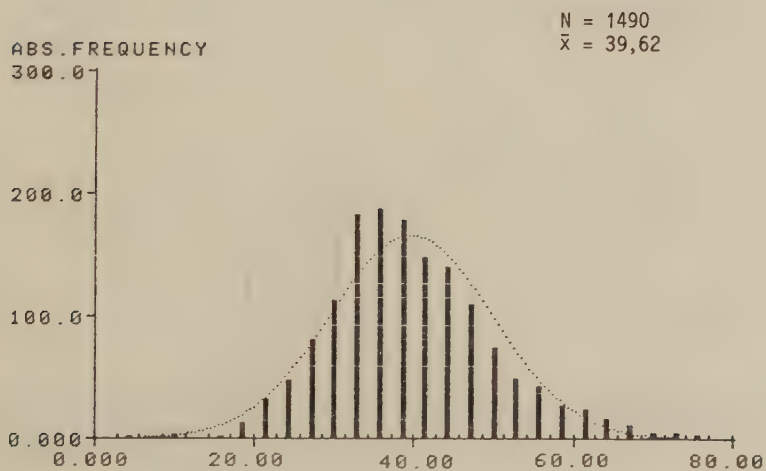
Fasertyp II



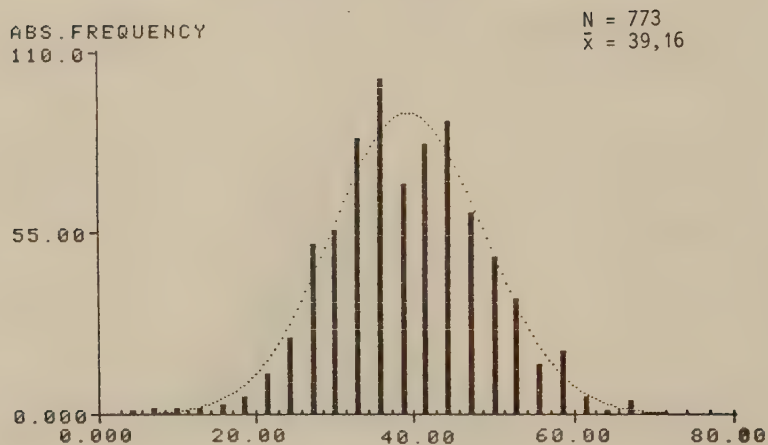
Gruppe IV, links
Fasertyp I



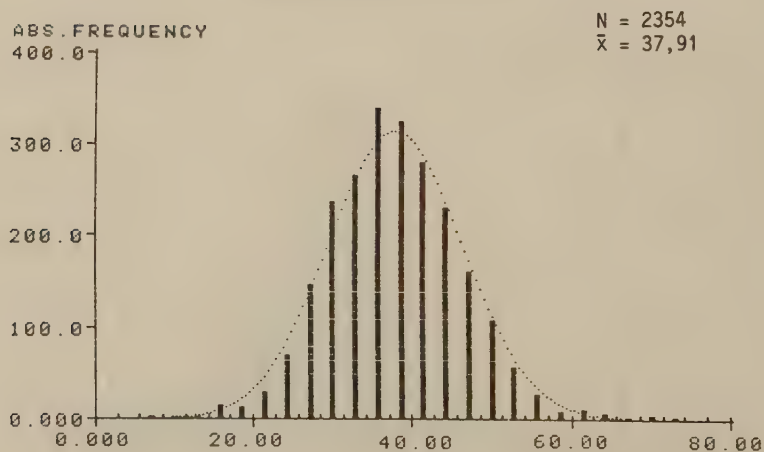
Fasertyp II



Gruppe IV, rechts
Fasertyp I



Fasertyp II



3.4. Kapillarisation

Der Wert der Kapillarisation drückt aus, wieviele Kapillaren eine Muskelfaser versorgen.

Die Ergebnisse der vier Versuchsgruppen und die relative Abnahme im intraindividuellen Links/Rechts-Vergleich sind im folgenden dargestellt.

Gruppe	n	L.B.		R.B.		d%
		$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	
I	17	1,09	0,02	1,03	0,02	- 5,5
II	15	1,16	0,05	1,00	0,03	-13,8
III	13	1,09	0,06	1,00	0,05	- 8,3
IV	20	1,22	0,03	1,22	0,03	Ø

Die Werte für die Kapillarisation der rechten und linken Mm. gastrocnemii der Gruppe IV unterschieden sich nicht und wurden deshalb nicht getrennt aufgeführt.

n = Anzahl der Einzelwerte (ausgewertete Muskeln)

$\bar{x}$ = Mittelwert der Kapillarisation (Kapillaren/Muskelfaser)

$S_{\bar{x}}$ = Standardabweichung des Mittelwerts

$d\% = 100 \times \left(\frac{\bar{x}_{\text{rechts}}}{\bar{x}_{\text{links}}} - 1 \right)$ (relative Abnahme in Prozent)

Der Normalwert der Kapillarisation des M. gastrocnemius betrug also durchschnittlich 1,22 Kapillaren pro Faser. Dieser Wert wurde bei den Tieren der Gruppe IV festgestellt.

In der unten stehenden Tabelle sind die Mittelwerte der Kapillarisation (Kapillaren pro Muskelfaser) der Gruppen I, II und III jeweils dem der Gruppe IV gegenübergestellt (interindividueller Vergleich).

	Gruppe I (n = 17)		Gruppe IV (n = 20)		
	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	d%
links	1,09	0,02	1,22	0,03	-10,66
rechts	1,03	0,02	1,22	0,03	-15,57

	Gruppe II (n = 15)		Gruppe IV (n = 20)		
	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	d%
links	1,16	0,05	1,22	0,03	- 4,92
rechts	1,00	0,03	1,22	0,03	-18,03

	Gruppe III (n = 13)		Gruppe IV (n = 20)		
	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	d%
links	1,09	0,06	1,22	0,03	-10,66
rechts	1,00	0,05	1,22	0,03	-18,03

$$d\% = 100 \times \left(\frac{\bar{x}_{\text{Gruppe I, II oder III}}}{\bar{x}_{\text{Gruppe IV}}} - 1 \right) \text{ (relative Verringerungsrate in Prozent)}$$

3.4.1. Auswirkungen der Immobilisation

Auch hier soll, wie bereits bei der Betrachtung der Ergebnisse bezüglich des Muskelgewichts und der Muskelfaserdurchmesser, der aussagekräftigere interindividuelle Vergleich im Vordergrund stehen. Um feststellen zu können, welchen Einfluß die Immobilisation auf die Kapillarisation des M. gastrocnemius ausübt, muß man den Mittelwert der Kapillarisation des rechten Muskels der Gruppe III (Immobilisation, keine Therapie) mit dem der Gruppe IV (keine Immobilisation, keine Therapie) vergleichen. Für das rechte Bein der Gruppe III betrug dieser Wert 1,00 und für die Gruppe IV 1,22. Dies ergibt eine statistisch hochsignifikante Abnahme der Kapillarisation nach Immobilisation um 18,03%.

Beim kontralateralen, linken Muskel der Gruppe III betrug der Mittelwert der Kapillarisation 1,09. Wiederum verglichen mit dem Wert der Nullkontrollgruppe IV von 1,22 ergibt sich auch hier eine Abnahme der Kapillarisation, und zwar um 10,66%. Dieser Unterschied ist jedoch statistisch nicht signifikant.

3.4.2. Auswirkungen der Schwellstromtherapie

Um den Einfluß der Schwellstromtherapie auf die Kapillarisation zu ermitteln, wurden zuerst die Werte der rechten Muskeln der Gruppe I (Immobilisation, Schwellstromtherapie) mit denen der Gruppe IV verglichen. Bei einem Mittelwert von 1,03 für das rechte Bein der Gruppe I und einem solchen von 1,22 für die Gruppe IV ergab sich eine

hochsignifikante Abnahme der Kapillarisation um 15,57% für die immobilisierten und zusätzlich schwellstromstimulierten Muskeln. Verglichen mit der Verringerungsrate der Kapillarisation bei den nur immobilisierten Muskeln (Gruppe III, rechts) von 18,03% ergibt sich eine Differenz beider Verringerungsraten von 2,46%. Dieser Unterschied ist statistisch nicht signifikant.

Beim kontralateralen, linken Muskel der Gruppe I betrug der Mittelwert der Kapillarisation 1,09. Verglichen mit dem Wert der Nullkontrollgruppe IV (1,22) ergibt sich hier eine Verringerungsrate von 10,66%. Diese Verringerungsrate ist identisch mit der für die kontralateralen Muskeln der Gruppe III (Immobilisation rechts, keine Therapie).

3.4.3. Auswirkungen der Therapie mit galvanischem Strom

Bei den Tieren der Gruppe II (Immobilisation, Gleichstromtherapie) wurde für die Kapillarisation des rechten M. gastrocnemius ein Mittelwert von 1,00 gefunden. Verglichen mit dem Mittelwert der Kapillarisation bei der Nullkontrollgruppe IV von 1,22 ergibt sich eine statistisch hochsignifikante Abnahme der Kapillarisation von 18,03% für die immobilisierten und zusätzlich gleichstromstimulierten Muskeln. Diese Verringerungsrate ist gleich groß wie die bei den nur immobilisierten Beinen (Gruppe III, rechts).

Beim kontralateralen, linken Muskel der Gruppe II betrug der Mittelwert der Kapillarisation 1,16. Verglichen mit dem Wert der Nullkontrollgruppe IV von 1,22 ergibt sich eine Verringerungsrate von 4,92%. Diese ist jedoch statistisch nicht signifikant. Der Unterschied

zwischen dem Wert der Kapillarisation der linken Muskeln der Gruppe II und der Gruppe III (Immobilisation, keine Therapie) ist ebenfalls statistisch nicht signifikant.

3.4.4. Zusammenfassung der Teilergebnisse

Hinsichtlich der Kapillarisation ergaben sich folgende Ergebnisse:

1. Der Muskel der immobilisierten Beines zeigt eine hochsignifikante Abnahme der Kapillarisation.
2. Beim kontralateralen Muskel war ebenfalls, aber nicht signifikant, eine Verminderung der Kapillarisation festzustellen.
3. Weder durch Schwellstromtherapie noch durch die Anwendung von Gleichstrom ergab sich eine statistisch signifikante Änderung der immobilisationsbedingten Hypokapillarisation. Auch auf den kontralateralen Muskel zeigten diese beiden Therapieformen hinsichtlich der Kapillarisation keinen Einfluß.

Auf den beiden folgenden Seiten sind die statistischen Veränderungen zusammengefaßt und die Ergebnisse graphisch dargestellt.

Die Einzelwerte sind im Anhang aufgeführt.

3.4.5. Statistik

Darstellung der Mittelwertvergleiche verschiedener Gruppen anhand ihrer t-Werte (rechts oben) und p-Werte (links unten). Die Begriffe sind unter 2.6. erklärt.

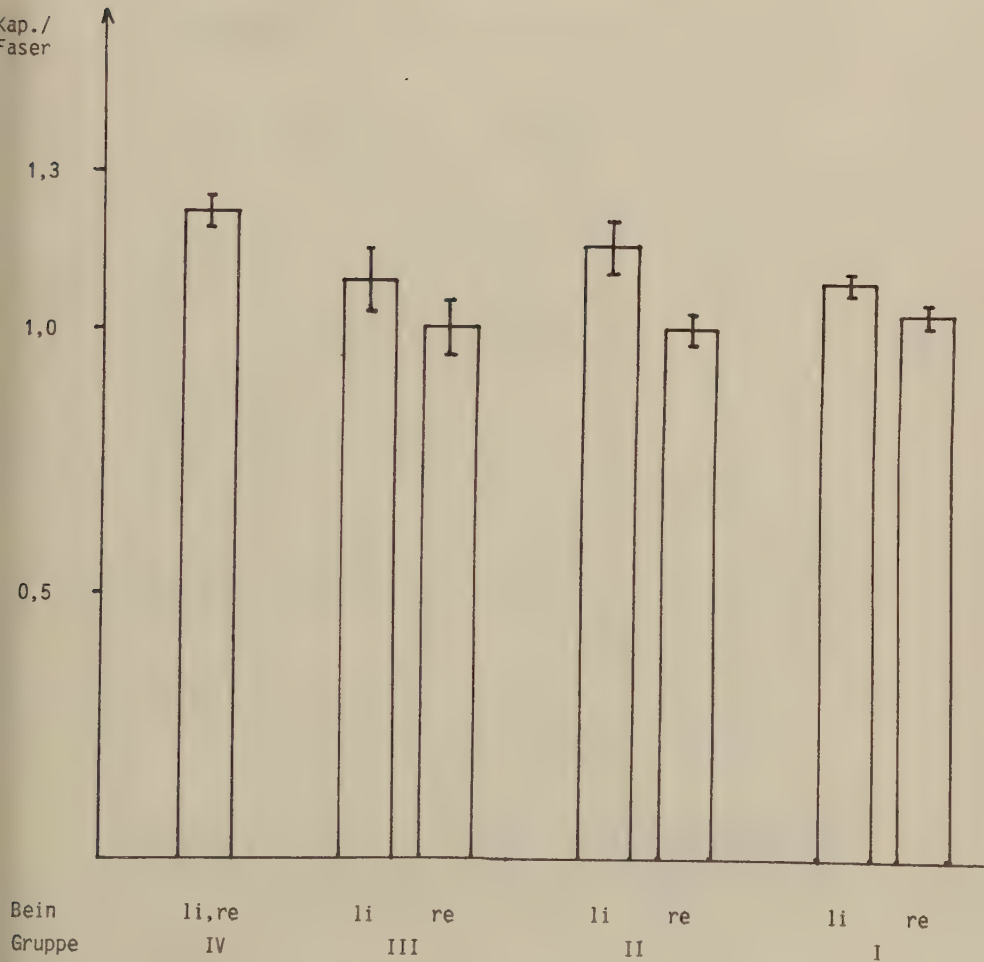
$\bar{x}$	1,09	1,03	1,16	1,00	1,09	1,00	1,22
$S_{\bar{x}}$	0,02	0,02	0,05	0,03	0,06	0,05	0,03
n	17	17	15	15	13	13	20
Gruppe	I	I	II	II	III	III	IV
Bein	li.	re.	li.	re.	li.	re.	li., re.

I	li.		1,982				-3,144
	re.	n.s.				0,618	-4,734
II	li.			2,558			-0,946
	re.		0,05			0,112	-4,498
III	li.					1,121	-1,854
	re.		n.s.	n.s.	n.s.		-3,740
IV	li.						
	re.	0,01	0,001	n.s.	0,001	n.s.	0,001

Zwischen den Werten der linken und rechten Mm. gastrocnemii der Kontrollgruppe (IV) bestand kein Unterschied.

3.4.6. Graphische Darstellung

Es sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen der 4 Versuchsgruppen, getrennt nach linkem und rechten Muskel abgebildet.



3.5. Kapillardichte

Der Wert der Kapillardichte zeigt an, wieviele Kapillaren sich auf einem Muskelquerschnitt von einem Quadratmillimeter Größe befinden. Die Ergebnisse der 4 Versuchsgruppen und die relative Zunahme im intraindividuellen Links/Rechts-Vergleich sind im folgenden dargestellt.

Gruppe	n	L.B.		R.B.		d%
		$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	
I	17	402	27,6	532	32,3	32,3
II	15	363	23,3	450	24,7	24,0
III	13	372	33,8	466	23,6	25,3
IV	20	344	21,1	344	21,1	0

Die Werte für die Kapillardichte der rechten und linken Mm. gastrocnemii der Gruppe IV unterschieden sich nicht und wurden deshalb nicht getrennt aufgeführt.

n = Anzahl der Einzelwerte (ausgewertete Muskeln)

$\bar{x}$ = Mittelwert der Kapillardichte (Kapillaren/mm²)

$S_{\bar{x}}$ = Standardabweichung des Mittelwerts

$d\% = 100 \times \left(\frac{\bar{x}_{\text{rechts}}}{\bar{x}_{\text{links}}} - 1 \right)$ (relative Zunahme in Prozent)

Der Normalwert der Kapillardichte des M. gastrocnemius betrug also durchschnittlich 344 Kapillaren/mm². Dieser Wert wurde bei den Tieren der Gruppe IV festgestellt.

In der folgenden Tabelle sind die Mittelwerte der Kapillardichte (Kapillaren/mm²) der Gruppen I, II und III jeweils dem der Gruppe IV gegenübergestellt (interindividueller Vergleich).

	Gruppe I (n = 17)		Gruppe IV (n = 20)		
	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	d%
links	402	27,6	344	21,1	16,9
rechts	532	32,3	344	21,1	54,7

	Gruppe II (n = 15)		Gruppe IV (n = 20)		
	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	d%
links	363	23,3	344	21,1	5,5
rechts	450	24,7	344	21,1	30,8

	Gruppe III (n = 13)		Gruppe IV (n = 20)		
	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	d%
links	372	33,8	344	21,1	8,1
rechts	466	23,6	344	21,1	35,5

$$d\% = 100 \times \left(\frac{\bar{x}_{\text{Gruppe I, II oder III}}}{\bar{x}_{\text{Gruppe IV}}} - 1 \right) \text{ (relative Zunahmerate in Prozent)}$$

3.5.1. Auswirkungen der Immobilisation

Um Aussagen über den Einfluß der Immobilisation auf die Kapillardichte des M. gastrocnemius treffen zu können, wurde auch hier wieder der interindividuelle Vergleich gewählt, i.e. die Werte der rechten Muskeln der Gruppe III (Immobilisation, keine Therapie) denen der Gruppe IV (keine Immobilisation, keine Therapie) gegenübergestellt. Für die nur immobilisierten Muskeln ergab sich dabei ein Mittelwert der Kapillardichte von 466 Kap./mm². Verglichen mit der mittleren Kapillardichte der Muskeln der Gruppe IV von 344 Kap./mm² ergibt sich eine statistisch hochsignifikante Zunahme dieses Parameters um 35,5% nach Immobilisation.

Beim kontralateralen, linken Muskel der Gruppe III betrug der Wert der Kapillardichte 372 Kap./mm². Verglichen mit dem Normalwert der Gruppe IV von 344 Kap./mm² ergibt sich hier eine leichte Zunahme um 8,1%. Diese Zunahme der Kapillarisation des kontralateralen Muskels ist statistisch jedoch nicht signifikant.

3.5.2. Auswirkungen der Schwellstromtherapie

Auch beim rechten M. gastrocnemius der Gruppe I (Immobilisation, Schwellstromtherapie) ergab sich, verglichen mit dem Wert bei der Gruppe IV, eine statistisch hochsignifikante Zunahme der Kapillardichte, und zwar um 54,7% (Gruppe I, rechts: 532 Kap./mm²; Gruppe IV 344 Kap./mm²). Die Zunahmerate der Kapillardichte bei diesen immobilisierten und zusätzlich schwellstromstimulierten Muskeln

unterscheidet sich jedoch statistisch nicht signifikant von der Zunahmerate der nur immobilisierten, rechten Muskeln der Gruppe III. Beim kontralateralen linken Bein der Gruppe I ergab sich ein Mittelwert der Kapillardichte des M. gastrocnemius von 402 Kap./mm². Verglichen mit der mittleren Kapillardichte der Nullkontrollgruppe IV ergibt sich eine leichte Zunahme der Kapillardichte von 16,9%. Der Unterschied ist statistisch nicht signifikant.

3.5.3. Auswirkungen der Therapie mit galvanischem Strom

Der Einfluß der Gleichstrombehandlung wurde bei den Tieren der Gruppe II untersucht. Hier ergab sich für den rechten, also immobilisierten Muskel ein Mittelwert der Kapillardichte von 450 Kap./mm². Verglichen mit dem entsprechenden Wert der Gruppe IV ergibt sich eine statistisch hochsignifikante Zunahme der Kapillardichte um 30,08%. Diese Zunahme unterscheidet sich jedoch statistisch nicht signifikant von der Zunahmerate des nur immobilisierten Muskels bei der Gruppe III (35,5%).

Für das kontralaterale Bein wurde eine mittlere Kapillardichte des M. gastrocnemius von 363 Kap./mm² ermittelt. Der Unterschied zu dem Wert der Gruppe IV von 5,5% ist statistisch nicht signifikant.

3.5.4. Zusammenfassung der Teilergebnisse

Die hinsichtlich der Kapillardichte erhaltenen Ergebnisse erlauben folgende Aussagen:

1. Die Kapillardichte des M. gastrocnemius der immobilisierten Extremität hat statistisch hochsignifikant zugenommen.
2. Die Kapillardichte des kontralateralen Muskels erfährt durch die Immobilisation keine statistisch signifikante Änderung.
3. Sowohl die Therapie mit Schwellstrom, als auch die Gleichstrombehandlung zeigen keinen statistisch signifikanten Einfluß auf die durch Immobilisation erzeugte Zunahme der Kapillardichte.
4. Auch auf die Kapillardichte des kontralateralen Muskels hat die Anwendung beider Therapieformen keinen Einfluß.

Auf den beiden folgenden Seiten sind die Ergebnisse bezüglich der Kapillardichte graphisch dargestellt und die statistischen Vergleiche in einer Übersicht zusammengefaßt.

3.5.5. Statistik

Darstellung der Mittelwertvergleiche verschiedener Gruppen anhand ihrer t-Werte (rechts oben) und p-Werte (links unten). Die Begriffe sind unter 2.6. erklärt.

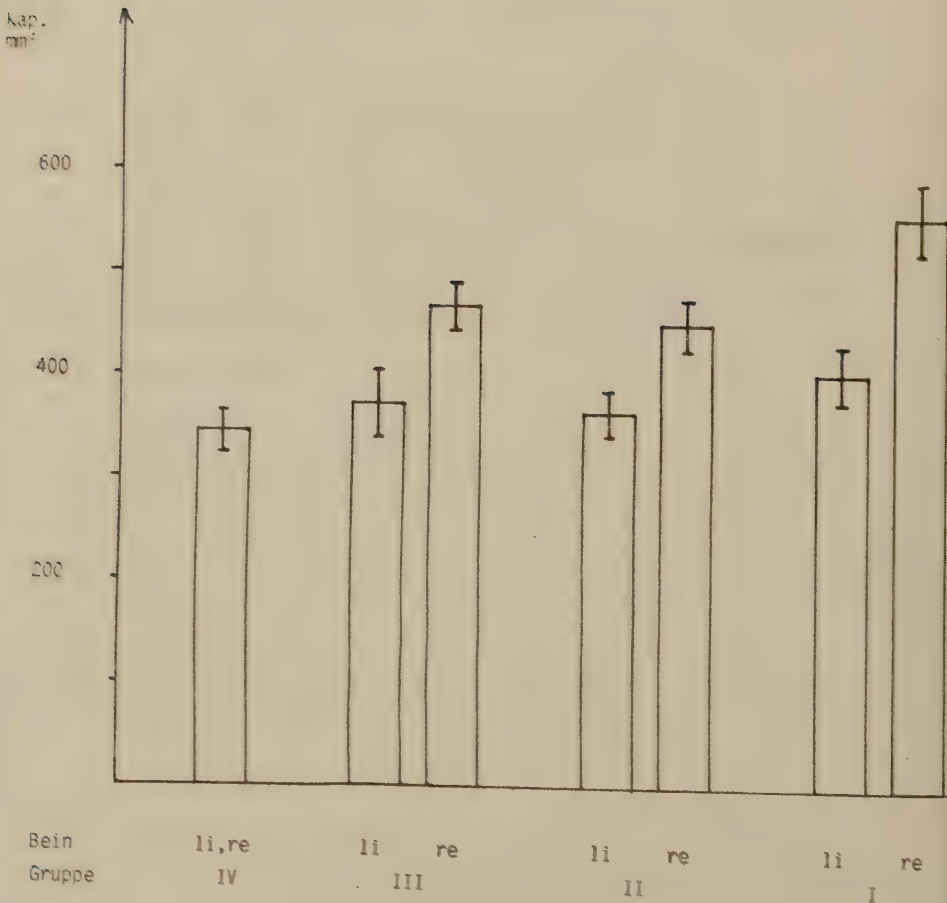
$\bar{x}$	402	532	363	450	372	466	344
$S_{\bar{x}}$	27,6	32,3	23,3	24,7	33,8	23,6	21,1
n	17	17	15	15	13	13	20
Gruppe	I	I	II	II	III	III	IV
Bein	li.	re.	li.	re.	li.	re.	li., re.

I	li.	-3,052					1,673
	re.	0,01				1,541	4,985
II	li.		-2,568				0,579
	re.		0,05			-0,466	3,258
III	li.					-2,289	0,725
	re.		n.s.	n.s.	0,05		3,759
IV	li.						
	re.	n.s.	0,001	n.s.	0,01	n.s.	0,001

Zwischen den Werten der linken und rechten Mm. gastrocnemii der Nullkontrollgruppe IV bestand kein Unterschied.

3.5.6. Graphische Darstellung

Es sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen der vier Versuchsgruppen, getrennt nach linkem und rechtem Muskel abgebildet.



4. Diskussion

Bereits 1873 hat Ranvier beobachtet, daß sich die Muskulatur des Kaninchenbeines aus zwei verschiedenen Muskeltypen, sogenannten "weißen" und "roten" Muskeln zusammensetzt (66). Er erkannte auch, daß diese sich in ihren morphologischen und physiologischen Eigenschaften unterscheiden und vermutete, daß die farbliche Verschiedenheit nicht auf der Größe der in diesen Muskeln zirkulierenden Blutmenge beruht, sondern die Ursache dafür in den Muskelfasern selbst zu suchen ist. Heute ist es unbestritten, daß sich hinsichtlich ihrer Physiologie, Morphologie und ihres Metabolismus prinzipiell zwei unterschiedliche Muskelfasertypen gegenüberstehen.

Der "rote" Fasertyp ist reich an Myoglobin, deckt seinen Energiebedarf vorwiegend oxidativ, kontrahiert relativ langsam, ist ausdauernd (tonisch) und ermüdet kaum. Er besitzt eine niedrige ATPase-Aktivität und ist gut mit Blutgefäßen versorgt.

Im Gegensatz dazu hat der "weiße" Fasertyp nur wenig Myoglobin, besitzt zusätzlich über die anaerobe Glykolyse eine beträchtliche Energiequelle, kontrahiert relativ rasch (phasisch) und ermüdet rascher. Er weist eine hohe ATPase-Aktivität auf und ist nur in geringerem Maße mit Kapillaren ausgestattet.

Das in der Methodik geschilderte histochemische Kriterium ist Grundlage der derzeit gebräuchlichsten Muskelfasereinteilung (21). Die Klassifizierung in Typ I (niedrige ATPase-Aktivität) und Typ II (hohe ATPase-Aktivität) kam auch in der vorliegenden Untersuchung zur Anwendung.

Die meisten Muskeln setzen sich, in einem bestimmten Mischungsverhältnis, aus beiden Fasertypen zusammen. Welcher der beiden Fasertypen dabei überwiegt, hängt meist von der anatomischen Position und der Funktion des Muskels ab.

Antischwerkraft- bzw. Haltemuskeln, die tief in einer Muskelgruppe lokalisiert sind, bestehen vorwiegend aus langsam und tonisch kontrahierenden Typ-I-Fasern. Die oberflächlich lokalisierten Muskeln, die, wie der hier untersuchte M. gastrocnemius, hauptsächlich der raschen Extremitätenbewegung dienen, setzen sich überwiegend aus phasischen, schnellen Typ-II-Fasern zusammen. Dieses grundsätzliche Muster der Muskelfaserverteilung gilt sowohl für die Ratte (3) als auch für den Menschen (18).

Es ist bekannt, daß nach Beendigung einer Immobilisationstherapie ein schneller Muskel, wie z.B. der M. gastrocnemius, mehr Zeit benötigt um sein ursprüngliches Gewicht wiederzuerlangen, als ein langsamer Haltemuskel (7,8).

Deshalb wurde in der vorliegenden Arbeit am Beispiel des oberflächlich gelegenen, schnellen M. gastrocnemius untersucht, ob die durch eine dreiwöchige Immobilisation hervorgerufene Atrophie mittels gleichzeitiger Anwendung von Elektrotherapie verhindert bzw. verringert werden kann. Die Betrachtung der Ergebnisse erfolgt dabei unter zwei Gesichtspunkten:

1. Welche Auswirkung zeigt eine dreiwöchige Immobilisation des M. gastrocnemius auf die Parameter Muskelgewicht, Muskelfaserdurchmesser, Kapillarisation und Kapillardichte?
2. Welchen Einfluß zeigt eine gleichzeitig durchgeführte Behandlung mit niederfrequentem Schwellstrom oder Gleichstrom

auf die immobilisationsbedingten Veränderungen o.g. Parameter?

Ad 1) Der in der vorliegenden Arbeit verwendete Immobilisationsverband (Kunststoffschiene, Gewebepflaster) erzeugte eine bereits makroskopisch deutlich erkennbare Atrophie des M. gastrocnemius des betreffenden Beines. Zur objektiven Quantifizierung dieser Muskelatrophie wurden das Muskelgewicht und vor allem die Muskelfaserdurchmesser bestimmt. Es bieten sich zwei Vergleichsmöglichkeiten für das atrophiierte Bein an. Viele Autoren wählten in früheren Arbeiten (19,24,54,64) das kontralaterale, nicht immobilisierte Bein desselben Tieres als Kontrolle (intraindividueller Vergleich). Andere Untersucher fanden eine kompensatorische Hypertrophie des kontralateralen Muskels (9) oder sogar eine Atrophie des kontralateralen, nicht immobilisierten Muskels (85) und entschlossen sich deshalb interindividuell zu vergleichen, i.e. der atrophiierte Muskel wurde einem Muskel eines unbehandelten Tieres gegenübergestellt. Da unsere Ergebnisse eine kontralaterale Hypertrophie zumindest des Fasertyp I zeigten, stellten wir den interindividuellen Vergleich in den Vordergrund der Betrachtungen. Vergleicht man das Gewicht des immobilisierten, nicht therapierten Muskels mit dem eines nicht manipulierten Muskels (Gruppe IV), so ergibt sich eine hochgradige Atrophie von 42,2%. Der Verlust dieser Muskelmasse ist nicht verbunden mit einer Abnahme der Muskelfaseranzahl (9,12, eigene Stichproben). Er ergibt sich allein aus der Abnahme der Muskelfaserstärke als Folge der Gleichgewichtsverschiebung des Proteinstoffwechsels in Richtung kataboler Prozesse (34).

Das Ausmaß der Atrophie war bei den beiden Muskelfasertypen unterschiedlich. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen vieler anderer tierexperimenteller Untersuchungen (14,19,23,47,52,53,84,86) ergab sich auch bei der vorliegenden Arbeit eine vermehrte Atrophie der tonischen Typ-I-Fasern. Dies ist damit zu begründen, daß durch Immobilisation vor allem die tonischen Muskelfasern ihre Haltefunktion verlieren, bzw. nicht mehr benötigen.

Untersuchungen bezüglich der Auswirkung von Immobilisation auf menschliche Muskelfasern ergaben gegensätzliche Ergebnisse. Edström und Sargeant beobachteten eine vermehrte Atrophie der Typ-I-Fasern (20,73), Engel & Brooke dagegen einen höheren Atrophiegrad der Typ-II-Fasern (22). Diese Studien wurden mit Patienten gemacht, deren Extremitäten wegen unterschiedlichster Verletzungen immobilisiert wurden. Deshalb können die hierbei beobachteten Ergebnisse nicht ohne weiteres mit den tierexperimentellen Befunden gesunder, immobilisierter Extremitäten verglichen werden.

Bei den Versuchstieren, deren rechtes Hinterbein immobilisiert worden war, wurde beim kontralateralen Muskel eine Durchmesserzunahme des Fasertyp I um 14% gefunden. Der Typ II war hier unverändert. Dieses im Sinne einer reaktiven kontralateralen Hypertrophie zu wertende Ergebnis kann darauf zurückgeführt werden, daß durch die Immobilisation des rechten Beines die kontralaterale Extremität sehr viel mehr Haltearbeit verrichten muß. Die Folge ist eine kompensatorische Hypertrophie der tonischen Fasern vom Typ I. Die schnellen, phasischen Muskelfasern vom Typ II sind davon nicht betroffen. Eine kontralaterale Hypertrophie bezüglich des Muskelgewichts war nicht festzustellen. Mögliche Gründe hierfür sind,

daß zum einen der hier untersuchte M. gastrocnemius überwiegend aus nicht hypertrophierten Typ-II-Fasern besteht und zum anderen die Bestimmung des Muskelgewichts im Vergleich zur Messung der Faserdurchmesser eine grobe und relativ ungenaue Art der Quantifizierung darstellt.

Zwischen dem Mischungsverhältnis der beiden Fasertypen eines Muskels und dessen Gefäßversorgung besteht ein direkter Zusammenhang. Der Fasertyp I ist wegen des hohen Sauerstoffbedarfs zur Deckung seines oxidativen Stoffwechsels von etwa doppelt so vielen Kapillaren umgeben wie der Fasertyp II. Ein Muskel ist deshalb um so besser mit Kapillaren ausgestattet, je höher sein Anteil an Typ-I-Fasern ist (1,51,57,59,69,70,83).

Der Zusammenhang zwischen der oxidativen Kapazität der Muskelfasern und der Kapillarversorgung des Muskels ist durch physiologische Experimente bestätigt worden. Hilton fand in Untersuchungen bei der Katze, daß ein "weißer", phasischer Muskel, der über die anaerobe Glykolyse eine beträchtliche Energiequelle besitzt (M. gastrocnemius), eine zwei- bis dreimal niedrigere Durchblutungskapazität aufweist, als ein "roter", tonischer Muskel (M. soleus) mit seinem charakteristisch hohen Sauerstoffverbrauch (42,43). Des weiteren hängt die Kapillarversorgung einer Muskelfaser außer vom Fasertyp noch von der Faserdicke ab.

Plyley & Groom fanden eine annähernd lineare Beziehung zwischen dem Muskelfaserdurchmesser und der Zahl der sie umgebenden Kapillaren (65).

Dieses Ergebnis wurde von Myrhage bestätigt, jedoch mit dem Zusatz, daß für die Höhe der Kapillarisation einer Muskelfaser die oxidative

Kapazität maßgebender ist als der Durchmesser (57).

In der vorliegenden Untersuchung betrug der Wert der Kapillarisation (Kapillaren/Faser) beim immobilisierten Muskel 1,00. Verglichen mit dem Wert der nicht manipulierten Kontrollmuskeln von 1,22 ergibt sich eine Abnahme der Kapillarisation um 18%.

Obwohl der immobilisierte Muskel also eine deutlich verringerte Kapillarisation aufweist, ist seine Kapillardichte (Kapillaren/mm²) signifikant erhöht. Die Zunahme dieses Gefäßparameters um rund 36% ist jedoch ausschließlich eine Folge der starken Atrophie der immobilisierten Muskulatur. Durch die Durchmesserabnahme der Muskelfasern schrumpft das Gefäßnetzwerk. Infolgedessen werden mehr Kapillaren auf die definierte Muskelquerschnittfläche von 1 mm² gezogen, obwohl gleichzeitig die Anzahl der Kapillaren, die eine Muskelfaser versorgen, abgenommen hat. Die Abhängigkeit des Gefäßparameters Kapillardichte vom Atrophiegrad des Muskels beschränkt seine Aussagekraft über die Gefäßversorgung atrophierter Muskeln. Sehr viel aufschlußreicher ist hierfür der Wert der Kapillarisation. Untersuchungen zur Bestimmung der Auswirkungen der Extremitätenimmobilisation auf die Kapillarisation und Kapillardichte menschlicher Muskeln sind unseres Wissens noch nicht durchgeführt worden. Ein Grund hierfür dürfte die schwierige Gewinnung von Biopsiematerial sein.

Ad 2) Derzeit werden die durch einen Immobilisationsverband verursachte Muskelatrophie und mögliche Blutzirkulationsstörungen erst nach Entfernung des Verbandes behandelt. Dies geschieht meist in Form von Elektrotherapie und Krankengymnastik.

Gemäß der Forderung von Gutmann (33) und Edel (17), mit der Elektrotherapie so früh wie möglich zu beginnen, wurde in dieser Arbeit der Frage nachgegangen, ob durch elektrische Reizstromtherapie, wenn sie von Beginn der Immobilisation an eingesetzt wird, die Schädigung der ruhig gestellten Muskulatur verringert oder sogar verhindert werden kann. Um uns dabei so weit wie möglich an die Gegebenheiten der bipolaren Behandlungstechnik in der Humanmedizin zu halten, applizierten wir den Reizstrom transkutan über zwei feuchte Viskoseschwämmchen. Es kamen dabei zwei Arten von Reizstrom zur Anwendung, die eine wichtige Stellung in der heutigen physikalischen Medizin innehaben: niederfrequenter Schwellstrom (30 Hz), der vorwiegend bei Inaktivitätsatrophien, und Gleichstrom, der bei peripheren Durchblutungsstörungen eingesetzt wird.

Niederfrequenter Schwellstrom

Normal innervierte Skelettmuskulatur reagiert auf Impulse relativ kurzer Dauer und relativ rascher Frequenz.

Ab Impulsfrequenzen von etwa 20 Hz verschmelzen die Einzelzuckungen zu einer tetanischen Kontraktion der Muskelfasern (75).

Es hat sich als vorteilhaft erwiesen, zur Elektrotherapie von normal innervierten Muskeln tetanisierende Impulsfolgen nicht dauernd und mit gleichbleibender Intensität, sondern periodisch und in geschwelter Form, i.e. mit an- und absteigend modulierter Stromstärke, zu applizieren.

Die Behandlung mit einem derart gestalteten Niederfrequenzstrom wird als Schwellstromtherapie bezeichnet.

Der in der vorliegenden Arbeit angewandte Schwellstrom besaß eine Impulsfrequenz von 30 Hz und eine maximale Stromstärke von 1 mA. Dadurch konnten tetanische Kontraktionen der Wadenmuskulatur ausgelöst werden, ohne den Tieren Schmerzen zuzufügen. Die Kontraktion der Wadenmuskulatur wurde anhand einer Plantarflexion der Phalangen sichtbar und konnte so kontrolliert werden.

Durch die Anwendung von Schwellstromtherapie konnte in unseren Untersuchungen die durch Immobilisation bedingte Muskelatrophie signifikant verringert werden. Der Faserdurchmesser beim phasischen Typ II verringerte sich beim therapierten Muskel um etwa 5% weniger als beim nur immobilisierten Muskel. Beim tonischen Fasertyp I war sogar eine Minderung der immobilisationsbedingten Atrophie um 7% festzustellen.

Dieses unterschiedliche Faserverhalten steht im Einklang mit Beobachtungen von Booth, der festgestellt hat, daß Muskeln, die überwiegend aus Fasern vom Typ I bestehen, schneller wieder ihren ursprünglichen trophischen Zustand erreichen, wenn sie nach Immobilisation trainiert werden, als solche, die sich überwiegend aus Typ-II-Fasern zusammensetzen. Als möglichen Grund hierfür stellte Booth das nachweislich schnellere Protein-Turnover des Fasertyp I zur Diskussion (8).

Trotz der signifikanten Minderung der Immobilisationsatrophie durch die Schwellstromtherapie ergibt sich gegenüber nicht immobilisierten Muskeln immer noch eine deutliche Atrophie der Muskelfasern. Da nach Meinung einiger Autoren die Wirksamkeit der Elektrotherapie proportional der täglichen Applikationsdauer ist (32,79,87), wäre es denkbar, daß durch eine Verlängerung der täglichen Behandlungszeit,

die in der vorliegenden Arbeit 30 Minuten betrug, ein größerer Therapieerfolg zu erreichen ist. Dies zu untersuchen sollte eine Aufgabe weiterer Studien sein. Die hier angewandte, an der klinischen Praxis orientierte, transkutane Applikationsweise des Schwellstroms zeigte bei Untersuchungen am tonischen M. soleus keinen atrophiemindernden Effekt (80). Der Grund hierfür dürfte sein, daß bei dieser Behandlungsform die Stromdichte zwar in den oberflächlich gelegenen, schnellen Muskeln (z.B. M. gastrocnemius) ausreichend ist um einen Therapieerfolg zu erhalten. Da die Stromdichte jedoch mit wachsendem Abstand von der Elektrode abnimmt, bleiben offensichtlich die tiefergelegenen Haltemuskeln, wie etwa der tonische M. soleus, unerregt.

Wie bereits erwähnt, erholen sich nach Beendigung der Immobilisation sogenannte schnelle Muskeln, wie eben der M. gastrocnemius, langsamer von der Atrophie als tonische Haltemuskeln.

Gerade deshalb dürfte, falls die hier erhaltenen Ergebnisse auf den Menschen übertragbar sind, die Schwellstromtherapie während Immobilisation eine sinnvolle Ergänzung der nach Ruhigstellung einsetzenden krankengymnastischen Übungsbehandlung darstellen.

In der vorliegenden Arbeit wurde neben dem Einfluß der Schwellstromtherapie auf die Muskelatrophie auch deren Wirkung auf die Gefäßversorgung des M. gastrocnemius des immobilisierten Rattenbeines untersucht. Die Kapillarisation der Skelettmuskulatur besitzt eine große Bedeutung, da in den Kapillaren die für die Muskelarbeit notwendigen Stoffe, insbesondere Sauerstoff, herangeschafft werden. Bei starker Arbeit kann der Skelettmuskel seine Durchblutung bis auf das 20fache der Ruhedurchblutung steigern (77).

Verschiedene Autoren haben eine Verbesserung der Durchblutung der Muskulatur durch transkutane Schwellstromapplikation beschrieben (17,76). Die Frage, ob in unseren Versuchen während (!) der Schwellstromanwendung eine Durchblutungssteigerung des M. gastrocnemius erfolgte, kann nicht beantwortet werden, da mit der hier angewandten Methodik nur Aussagen bezüglich etwaiger morphologischer Veränderungen nach Therapie gemacht werden können. Mögliche physiologische Änderungen während der Stromapplikation werden damit jedoch nicht erfaßt.

Die hier erhaltenen Werte für Kapillarisierung und Kapillardichte des nur immobilisierten und des immobilisierten und gleichzeitig schwellstromstimulierten M. gastrocnemius unterschieden sich nicht. Somit konnte in unserer Untersuchung die transkutane, niederfrequente Schwellstrombehandlung die immobilisationsbedingte Abnahme der Kapillarversorgung nicht beeinflussen.

Gleichstrom

Bei dieser Therapieform tritt, im Gegensatz zu einer suffizienten Schwellstrombehandlung, keine motorische Reaktion der Muskulatur auf. Höchstens durch starke und schnelle Veränderung der Stromintensität können unerwünschte Zuckungen der Muskulatur auftreten. Dieses Problem tritt vor allem am Anfang und Ende der Behandlung auf, wo es gilt, das Auftreten der sogenannten Stromöffnungs- und Stromschließungszuckung zu vermeiden. Dies kann durch einminütiges Einschleichen bis zum Erreichen der gewünschten Stromstärke bzw. durch einminütiges Ausschleichen am Behandlungsende erreicht werden. Während der gesamten

Therapiedauer wird die Stromstärke auf einem gleichbleibenden Niveau gehalten.

In der Humanmedizin wird für die Gleichstrombehandlung eine Maximalstärke angewandt, deren Intensität als "sensibel schwellig" bezeichnet wird (27). Dabei empfindet der Patient ein subjektives Gefühl des "Prickelns".

Die Berücksichtigung subjektiver Kriterien ist in tierexperimentellen Untersuchungen nicht möglich. Deswegen mußte hier die Festlegung der Verträglichkeitsgrenze nach anderen Gesichtspunkten erfolgen.

Bei Überschreiten einer gewissen Stromstärke war zu beobachten, daß die Versuchstiere anfangen, unruhig zu werden. Dies führten wir auf ein unangenehmes elektrisches Stromgefühl zurück.

Desweiteren traten bei Applikation zu hoher Stromintensität verschiedene Hautschäden an den behandelten Rattenextremitäten auf. Bei der Gleichstromtherapie mit Stromstärken bis zu 900 μ A traten keine der beiden Überdosierungserscheinungen auf. Somit stellte diese Stromintensität die obere Verträglichkeitsgrenze in unseren Versuchen dar.

Als eine der wesentlichsten Wirkungen der Behandlung mit galvanischem Strom gilt die Förderung der Muskeldurchblutung. Das Ausmaß dieses Effekts wird von verschiedenen Autoren jedoch unterschiedlich beurteilt.

So finden sich in der Literatur fluvographische Untersuchungen, die eine Steigerung der Muskeldurchblutung bis zum dreifachen des Ruhewerts beschreiben (40,41). Schnizer hingegen fand in einer Arbeit zur Frage der transkutanen Wirkung des elektrischen Stromes auf das periphere Gefäßsystem des Menschen mit Hilfe

venenverschlußplethysmographischer Messungen nur einen geringen Durchblutungsanstieg im Unterschenkel, obwohl Stromintensitäten nahe der Verträglichkeitsgrenze angewandt wurden (76).

Die Wirkung des Gleichstroms auf die Durchblutung spielt sich wahrscheinlich in erster Linie in der Haut ab (Strom-Erythem).

In der vorliegenden Arbeit ergab sich bezüglich der Gefäßversorgung kein Unterschied in den Ergebnissen der therapierten und der nicht therapierten immobilisierten Muskeln. In beiden Fällen fand sich eine durchschnittliche Abnahme der Kapillarisation um etwa 18%.

Dies muß aber nicht bedeuten, daß eine Minderversorgung eingetreten ist, da die Kapillardichte sich erhöht hat. Zur Problematik des Parameters Kapillardichte siehe Abb. 14.

Abschließend bleibt festzustellen, daß in dieser Arbeit versucht wurde, möglichst eng an der Praxis der Humanmedizin orientierte Bedingungen herzustellen. Dies gilt vor allem für die Relation Gips-/Körpergewicht, die transkutane und bipolare Applikationsweise der Therapiestromformen und die Wahl einer unter der Verträglichkeitsgrenze liegenden Stromintensität.

Dagegen ist es nicht möglich, bestimmte Unterschiede wie Gewebsmasse, Stromdurchflutung oder zerebrale Verarbeitung zu berücksichtigen. Zu beachten ist vor allem auch, daß im Gegensatz zu den hier beschriebenen Tierversuchen, eine Immobilisation der menschlichen Extremität aufgrund einer vorangegangenen Verletzung erfolgt, was meist komplizierte Verhältnisse mit sich bringt.

Die Übertragbarkeit der Ergebnisse dieser Arbeit auf die durch einen Immobilisationsverband hervorgerufene Schädigung der menschlichen Muskulatur ist aus all diesen Gründen nur bedingt möglich.

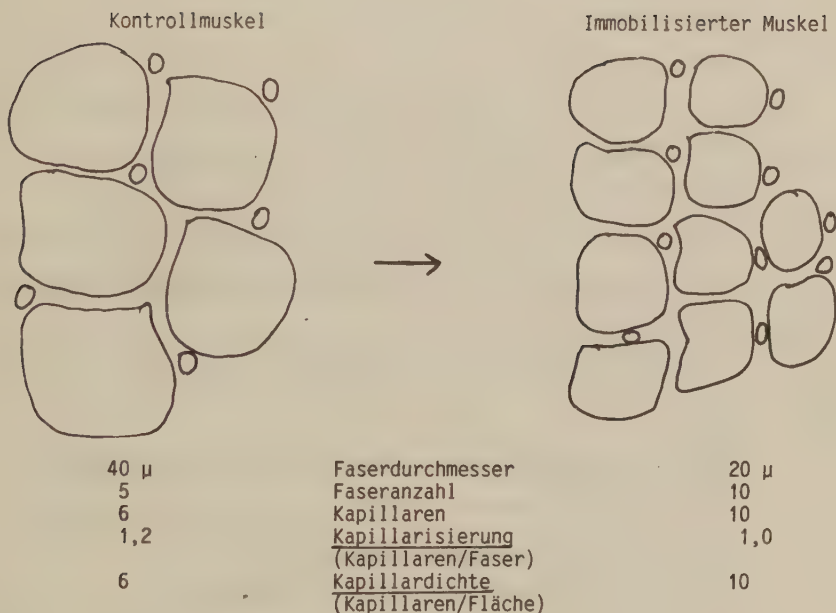


Abb. 14:

Dieses erfundene Beispiel zeigt, daß in einem durch Immobilisation atrophierten Muskel die Kapillarisation abnehmen, gleichzeitig jedoch die Kapillardichte deutlich zunehmen kann. Dies findet seinen Grund hauptsächlich darin, daß durch die Atrophie nicht nur der Faserdurchmesser, sondern mit ihm das gesamte Gefäßnetzwerk schrumpft und so eine vermehrte Anzahl von Kapillaren auf eine vorgegebene Grundfläche gezogen werden. Ein Heranziehen der Kapillardichte als Kriterium der Gefäßversorgung eines Muskels erscheint deshalb vor allem bei großen Atrophieraten problematisch. Die Kapillarisation als Parameter ist hierfür unseres Erachtens geeigneter.

5. Zusammenfassung

Ziel dieser tierexperimentellen Arbeit war es, festzustellen, ob eine bereits während der Extremitätenimmobilisation angewandte Elektrotherapie (niederfrequente Schwellstromtherapie und Gleichstromtherapie) einen verhindernden oder zumindest verringernden Einfluß auf die durch diese Ruhigstellung hervorgerufenen Schädigungen der Muskulatur zeigt.

Dazu erfolgte eine Aufteilung von 69 männlichen Versuchsratten in vier Gruppen:

Gruppe I : Immobilisation und gleichzeitige Schwellstromtherapie

Gruppe II : Immobilisation und gleichzeitige Gleichstrombehandlung

Gruppe III: Immobilisation, keine Elektrotherapie

Gruppe IV : keine Immobilisation, keine Elektrotherapie

Behandelt wurde jeweils die rechte hintere Extremität, als Kontrolle dienten die bei Gruppe IV ermittelten Werte (interindividueller Vergleich).

Nach Beendigung des dreiwöchigen Versuchsprogramms wurde bei allen Tieren der M. gastrocnemius aus beiden hinteren Extremitäten entnommen. Nach der Ermittlung des Gewichts wurde der Muskel für die sich zu einem späteren Zeitpunkt anschließende histochemische Aufarbeitung konserviert. Dies erfolgte durch Anwendung der Schnellgefrieremethode mit flüssigem Stickstoff.

Die mit einem Kryostat hergestellten Muskelquerschnitte wurden einer modifizierten ATPase-Färbung nach Guth & Samaha ($\text{pH} = 4,35$)

unterzogen. Dies ermöglichte die Darstellung der Muskelfasern mit Unterteilung in Typ I (niedrige ATPase-Aktivität) und Typ II (hohe ATPase-Aktivität) und die gleichzeitige Sichtbarmachung der Kapillaren im selben Präparat.

Anhand von Photographien der so gefärbten Muskelpräparate wurden die Werte für Faserdurchmesser, Kapillarisierung (Kapillaren/Faser) und Kapillardichte (Kapillaren/mm²) ermittelt.

Die Ergebnisse zeigen, daß die durch den verwendeten Pflaster-Kunststoffverband verursachte Immobilisation der Extremität eine hoch signifikante Atrophie des M. gastrocnemius bewirkte. Diese war beim Fasertyp I stärker ausgeprägt als beim Fasertyp II. Weiterhin ergab sich eine signifikante Hypertrophie des Fasertyp I beim kontralateralen Muskel.

Durch die Anwendung von niederfrequenter Schwellstromtherapie konnte diese Faseratrophie signifikant verringert werden. Der Behandlungserfolg war bei Fasertyp I größer als bei Fasertyp II. Die Anwendung von Gleichstromtherapie zeigt keine signifikanten Auswirkungen auf das Atrophieausmaß.

Die Kapillarisierung im atrophierten M. gastrocnemius war hoch signifikant verringert, aber die Kapillardichte deutlich erhöht. Die Zunahme dieses Parameters ist jedoch unseres Erachtens eine Folge der durch die starke Atrophie verursachten Schrumpfung des Gefäßnetzwerkes.

Auf diese morphologischen Veränderungen im Gefäßnetz des immobilisierten M. gastrocnemius hatten beide Elektrotherapieformen keinen protektiven Einfluß.

6. Anhang

6.1. Einzeldaten der Tiere

6.1.1. Muskelgewicht (in mg)

Gruppe I			Gruppe II			Gruppe III		
Tier	li.	re.	Tier	li.	re.	Tier	li.	re.
1	1540	1100	8	1560	900	3	1425	720
2	1350	960	10	1475	985	7	1562	1028
4	1700	1050	11	1485	990	13	1155	925
6	1220	948	15	1160	750	20	1150	850
12	890	680	16	1290	900	24	1350	920
19	1270	1040	17	1110	760	25	1285	992
21	1692	1150	27	1498	820	31	1364	915
22	1200	940	28	1345	900	35	888	600
23	1652	1078	29	1240	785	43	1430	932
33	1308	800	32	1388	948	44	1488	1030
38	1028	746	36	958	473	54	1245	635
45	1500	880	39	1410	728	65	1015	820
49	1016	820	40	1340	862	66	975	720
50	1378	988	41	1332	858	67	1088	665
51	1430	950	42	1505	960	68	1220	855
55	1525	1056	48	1678	982			
56	1205	825	57	1250	990			
61	1100	705	58	1335	860			
62	880	790	59	1465	995			
63	975	965						
64	935	750						

Gruppe IV

Anmerkung:

Tier	li.	re.	
5	--	1652	Bei den ersten sechs Tieren der Gruppe IV wurde nur jeweils der rechte M. gastrocnemius entnommen.
9	--	1650	
14	--	1400	
18	--	1700	
26	--	1266	
30	--	1552	
34	1495	1432	
37	1182	1200	
46	1605	1635	
47	1550	1460	
52	1645	1578	
53	1320	1285	
60	1450	1360	
69	1340	1240	

6.1.2. Muskelfaserdurchmesser (in Mikrometer)

Gruppe I

Tier	links				rechts			
	Typ I		Typ II		Typ I		Typ II	
	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$
1	34,46	6,33	39,27	5,81	33,57	6,17	32,79	7,25
2	32,78	8,32	35,18	6,44	31,62	5,89	35,20	7,11
4	33,71	6,85	37,34	6,87	30,01	6,18	31,33	5,74
6	36,71	7,13	42,83	8,75	35,09	5,64	36,21	7,29
12	38,41	7,57	33,99	8,49	28,56	6,13	28,13	5,27
19	36,97	8,18	32,94	8,28	22,67	4,81	24,63	5,74
21	32,31	8,72	40,03	9,13	29,97	5,98	31,80	6,73
22	49,71	8,04	38,89	6,60	37,10	6,74	38,50	7,64
23	46,48	8,90	39,74	7,13	36,21	6,49	37,08	7,14
33	36,30	6,52	31,56	5,98	30,58	6,59	38,58	8,69
38	37,76	7,35	35,25	6,12	25,23	5,79	28,12	6,41
45	47,84	9,28	36,33	7,56	28,88	4,98	30,48	6,58
49	43,74	8,93	32,35	7,26	41,59	6,97	37,81	7,23
50	43,46	8,92	41,06	8,12	32,56	5,97	34,95	6,45
51	39,68	7,70	33,32	7,01	31,01	6,24	32,81	6,70
55	45,43	10,12	35,90	7,75	34,01	6,48	30,39	6,45
56	39,09	6,53	34,64	6,74	23,38	6,18	24,48	5,31
61	42,04	6,61	36,42	7,02	32,07	6,41	29,06	7,28
62	46,60	8,41	31,29	6,06	35,67	6,46	29,80	4,85
63	47,00	8,63	35,23	6,22	32,33	6,07	34,68	6,24
64	40,65	7,01	33,41	5,94	32,24	6,07	28,40	4,98

Gruppe II

Tier	links				rechts			
	Typ I		Typ II		Typ I		Typ II	
	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$
8	36,28	6,34	32,81	6,52	29,49	5,89	33,15	7,22
10	37,90	8,37	35,74	7,11	30,77	6,85	34,08	6,88
11	34,12	9,03	33,38	6,97	24,05	6,28	27,66	7,12
15	33,10	6,65	32,54	6,79	24,75	6,96	29,28	7,36
16	43,87	7,54	38,98	6,63	27,43	6,29	27,36	6,45
17	36,22	6,37	32,77	6,34	31,07	5,88	36,25	6,87
27	43,82	9,82	40,51	7,47	30,45	5,52	34,93	6,53
28	47,96	8,62	37,35	7,21	26,60	5,22	32,30	8,12
29	38,58	7,29	32,35	6,05	27,74	5,11	29,35	5,29
32	41,85	9,36	37,71	7,14	35,85	7,00	37,00	6,47
36	36,93	7,39	32,80	7,11	24,74	4,81	24,34	5,08
39	39,80	6,27	32,49	5,84	25,25	5,10	27,87	6,03
40	42,77	9,70	37,82	8,06	27,67	7,39	29,98	6,47
41	43,12	9,38	44,77	9,71	26,64	6,34	32,28	7,93
42	44,07	8,97	35,82	7,64	30,86	5,91	30,48	5,45
48	45,82	8,31	38,46	6,59	31,47	6,34	36,72	9,64
57	42,31	7,74	35,65	6,55	32,42	8,25	33,23	7,13
58	41,45	8,20	38,26	6,66	31,38	5,70	33,76	5,80
59	36,15	7,35	38,16	8,22	26,02	5,54	30,75	7,67

Gruppe III

Tier	links				rechts			
	Typ I		Typ II		Typ I		Typ II	
	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$
3	42,43	8,35	39,39	6,86	29,81	7,43	31,45	5,89
7	40,92	9,91	37,66	7,47	27,91	7,38	30,44	6,37
13	41,98	8,32	40,25	9,77	30,37	7,77	27,90	5,67
20	38,06	8,44	44,38	10,81	28,41	6,81	29,17	6,00
24	45,81	7,87	36,99	6,18	37,40	9,43	30,79	6,26
25	50,78	8,24	38,94	6,80	34,79	7,98	29,12	7,03
31	44,16	8,69	34,27	6,03	29,67	7,22	29,15	6,50
35	38,92	8,59	31,85	6,02	27,70	7,02	27,72	6,66
43	38,80	6,44	35,14	7,30	30,90	7,08	28,39	6,64
44	51,91	10,20	40,65	8,46	33,17	7,50	32,53	7,78
54	42,01	8,15	33,89	6,07	29,35	6,02	25,04	5,58
65	45,17	10,16	43,20	9,44	32,67	8,00	32,46	6,18
66	44,69	8,67	31,85	5,91	28,01	5,94	31,18	5,83
67	43,90	8,83	36,45	6,88	29,78	7,68	33,43	6,60
68	39,15	9,67	39,30	9,23	29,67	6,23	30,80	6,85

Gruppe IV

Tier	links				rechts			
	Typ I		Typ II		Typ I		Typ II	
	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$
5	-	-	-	-	39,29	9,75	36,84	8,26
9	-	-	-	-	38,66	8,39	40,03	7,37
14	-	-	-	-	31,39	8,39	35,40	8,23
18	-	-	-	-	44,00	9,77	38,16	7,42
26	-	-	-	-	39,49	6,13	40,53	7,12
30	-	-	-	-	51,84	10,76	41,76	8,13
34	36,59	7,38	38,79	6,90	41,71	9,79	40,77	7,44
37	42,59	9,00	37,31	8,79	36,45	8,17	34,35	7,22
46	44,61	9,41	35,69	6,45	48,31	9,37	38,61	6,80
47	51,50	7,88	39,58	6,77	53,67	9,74	44,03	8,11
52	45,52	9,20	44,70	8,49	43,55	8,38	38,95	7,96
53	35,80	6,68	36,59	7,24	43,12	9,30	39,56	7,84
60	38,27	8,94	43,13	11,97	45,46	9,37	37,72	7,66
69	30,96	5,82	42,96	11,43	38,36	7,78	38,60	11,10

Anmerkung: Bei den ersten sechs Tieren der Gruppe IV wurde nur
jeweils der rechte M. gastrocnemius entnommen.

6.1.3. Kapillarisation

6.1.4. Kapillardichte

Gruppe I

Tier	Bein	Kap./2Fotos	Faser/2Fotos	Kapillarisation	Kapillardichte
1	l	233	252	0,92	273
	r	302	305	0,99	353
2	l	339	336	1,01	397
	r	565	538	1,05	661
4	l	210	206	1,02	246
	r	444	386	1,15	519
6	l	339	289	1,17	397
	r	318	347	0,92	372
19	l	275	239	1,15	322
	r	545	551	0,99	638
21	l	273	284	0,96	319
	r	309	322	0,96	362
22	l	340	321	1,06	398
	r	541	536	1,01	633
23	l	300	246	1,22	351
	r	427	454	0,94	500
38	l	642	594	1,08	751
	r	583	577	1,01	682
45	l	385	312	1,23	450
	r	726	719	1,01	849
49	l	268	224	1,20	314
	r	475	393	1,21	556
51	l	448	393	1,14	524
	r	349	317	1,10	408
55	l	335	283	1,18	392
	r	416	416	1,00	487
61	l	346	314	1,10	405
	r	420	358	1,17	491
62	l	365	350	1,04	427
	r	377	402	0,94	441
63	l	347	332	1,04	406
	r	416	376	1,11	487
64	l	397	384	1,03	464
	r	517	547	0,95	605

Gruppe II

Tier	Bein	Kap./2Fotos	Faser/2Fotos	Kapillarisierung	Kapillardichte
8	l	321	254	1,26	376
	r	296	281	1,05	346
10	l	312	284	1,10	365
	r	326	323	1,01	381
11	l	183	183	1,00	214
	r	294	325	0,90	344
16	l	362	348	1,04	424
	r	423	388	1,09	495
17	l	239	254	0,94	280
	r	296	360	0,82	346
27	l	272	269	1,01	318
	r	352	420	0,84	412
28	l	222	218	1,02	260
	r	332	337	0,99	388
29	l	271	238	1,14	317
	r	289	398	0,98	455
39	l	292	286	1,02	342
	r	405	452	0,90	474
41	l	346	259	1,34	405
	r	416	434	0,96	487
42	l	353	299	1,18	413
	r	468	517	0,91	547
48	l	371	280	1,33	434
	r	557	438	1,27	652
57	l	258	206	1,25	302
	r	394	358	1,10	461
58	l	504	293	1,72	590
	r	517	406	1,27	605
59	l	348	320	1,09	407
	r	312	321	0,97	365

Gruppe III

Tier	Bein	Kap./2Fotos	Faser/2Fotos	Kapillarisierung	Kapillardichte
3	l	225	212	1,06	263
	r	370	360	1,03	433
7	l	552	348	1,59	646
	r	435	434	1,00	509
13	l	201	205	0,98	235
	r	276	337	0,82	323
24	l	461	375	1,23	539
	r	482	459	1,05	564
25	l	273	280	0,98	319
	r	481	355	1,35	563
31	l	277	262	1,06	324
	r	353	339	1,04	413
35	l	377	441	0,85	441
	r	320	481	0,67	374
43	l	280	250	1,12	328
	r	345	342	1,01	404
44	l	335	214	1,57	392
	r	421	317	1,33	493
54	l	289	310	0,93	338
	r	484	441	1,10	566
66	l	401	392	1,02	469
	r	483	507	0,95	565
67	l	261	255	1,02	305
	r	415	506	0,82	486
68	l	204	253	0,81	239
	r	319	402	0,79	373

Gruppe IV

Tier	Bein	Kap./2Fotos	Faser/2Fotos	Kapillarisierung	Kapillardichte
5	l r	- 188	- 176	- 1,07	- 220
9	l r	- 195	- 197	- 0,99	- 228
26	l r	- 385	- 326	- 1,18	- 450
30	l r	- 266	- 212	- 1,25	- 311
34	l r	230 295	174 223	1,32 1,32	269 345
37	l r	474 289	430 283	1,10 1,02	555 338
46	l r	307 275	277 215	1,40 1,28	359 322
47	l r	220 285	180 209	1,22 1,36	257 333
52	l r	317 373	232 353	1,37 1,06	371 436
53	l r	279 344	268 255	1,04 1,35	326 402
60	l r	216 466	203 327	1,06 1,42	253 545
69	l r	220 272	180 208	1,22 1,31	257 318

Anmerkung: Bei den ersten vier Tieren der Gruppe IV wurde nur jeweils der rechte M. gastrocnemius entnommen.

7. Literaturangaben

1. Andersen P.
Capillary density in skeletal muscle of man.
Acta Physiol. Scand. 95, 203-205, 1975.
2. Appell H.-J.
Zur Faserzusammensetzung und Kapillarversorgung besonders beanspruchter Muskeln.
Dissertation, Sporthochschule Köln 1977.
3. Ariano M.A., Armstrong R.B., Edgerton V.R.
Hindlimb muscle fibre populations of five mammals.
J. Histochem. Cytochem. 21, 51-55, 1973.
4. Booth F.W., Kelso J.R.
Production of rat muscle atrophy by cast fixation.
J. Appl. Physiol. 34, 3, 404-406, 1973.
5. Booth F.W., Kelso J.R.
Effect of hindlimb immobilization on contractile and histochemical properties of skeletal muscle.
Pflügers Arch. 361, 231-238, 1973.
6. Booth F.W.
Time course of muscular atrophy during immobilization of hindlimbs in rats.
J. Appl. Physiol. 43 (4), 656-661, 1977.
7. Booth F.W.
Regrowth of atrophied skeletal muscle in adult rats after ending immobilization.
J. Appl. Physiol. 44, 2, 225-230, 1978.
8. Booth F.W., Seider M.J.
Effects of disuse by limb immobilization on different muscle fiber types.
Plasticity of muscle. Walter de Gruyter & Co. Berlin, New York 1980.
9. Boyes G., Johnston I.
Muscle fibre composition of rat vastus intermedius following immobilization at different muscle lengths.
Pflügers Arch. 381, 195-200, 1979.
10. Brooke M.H., Kaiser K.K.
Muscle fiber types: How many and what kind?
Arch. Neurol. 23, 369-379, 1970.

11. Burke R.E., Levine D.N., Zajac F.E., Tsairis P., Engel W.K.
Mammalian motor units: Physiological-histochemical correlation in three types in cat gastrocnemius.
Science 174, 709-712, 1971.
12. Cardenas D.D., Stolov W.C., Hardy R.
Muscle fiber number in immobilization atrophy.
Arch. Phys. Med. Rehabil. 58, 423-426, 1977.
13. Chiasson R.B.
Laboratory anatomy of the white rat.
Verlag W.M.C. Brown company publishes.
14. Cooper R.R.
Alterations during immobilization and regenerations of skeletal muscle in cats.
J. Bone & Jt. Surg 54A, 919, 1972.
15. Dubowitz V., Brooke M.H.
Muscle biopsy: A modern approach.
London-Philadelphia-Toronto: W.B. Saunders 1973.
16. Dubowitz V., Pearse A.G.E.
A comparative histochemical study of oxidative enzyme and phosphorylase activity in skeletal muscle.
Histochemie 2, 105-117, 1960.
17. Edel H.
Fibel der Elektrodiagnostik und Elektrotherapie.
Steinkopff, Dresden 1975.
18. Edgerton V.R., Smith J.L., Simpson D.R.
Muscle fibre type populations of human leg muscles.
Histochem. J. 7, 259-266, 1975.
19. Edgerton V.R., Barnard R.J., Peter J.B., Maier A., Simpson D.R.
Properties of immobilized hindlimb muscles of the Galago senegalesis.
Exp. Neurol. 46, 115-131, 1975.
20. Edström L.
Selective atrophy of red muscle fibres in the quadriceps in long-standing knee-joint dysfunction following injuries to the anterior cruciate ligament.
Neurol. Sci. 114, 551-559, 1970.
21. Engel W.K.
The essentiality of histo- and cytochemical studies of skeletal muscle in the investigation of neuromuscular disease.
Neurology 12, 778-794, 1962.

22. Engel W.K., Brooke M.H.
Muscle biopsy as a clinical diagnostic aid.
In: Neurological diagnostic techniques. Fields, W.S. (ed), pp.
121-123. Springfield: Thomas 1966.
23. Ferguson A.B., Vaughan L., Ward L.
A study of disuse atrophy of skeletal muscle in the rabbit.
J. Bone & Jt. Surg. 39 A, 583.
24. Fischbach G.D., Robbins N.
Changes in contractile properties of disused soleus muscles.
J. Physiol. 201, 305-320, 1969.
25. Fisher R.A., Yates F.
Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical
Research.
Oliver and Boyd Ltd., Edinburgh 1963.
26. Gauthier G.F.
On the relationship of ultrastructural and cytochemical features
to color in mammalian skeletal muscle.
Z. Zellforsch. 95, 462-482, 1969.
27. Gillert O.
Niederfrequente Reizströme in der therapeutischen Praxis.
München 1968.
28. Goldspink D.F.
Changes in the size and protein turnover of the soleus muscle in
response to immobilization or denervation.
Biochemical Society Transactions, 576th Meeting, London 1978.
29. Gray S.D., Renkin E.M.
Mikrovascular supply in relation to fiber metabolic type in mixed
skeletal muscles of rabbits.
Microvascular Research 16, 406-425, 1978.
30. Guth L., Samaha F.J.
Qualitative differences between actomyosin ATPase of slow and
fast mammalian muscle.
Experimental Neurology 25, 138-152, 1969.
31. Guth L., Samaha F.J.
Procedure for the histochemical demonstration of actomyosin
ATPase.
Experimental Neurology 28, 365-367, 1970.
32. Gutmann E., Gutmann L.
The effect of galvanic exercise of denervated and re-innervated
muscles in the rabbit.
J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 7, 7-17, 1944.

33. Gutmann E.
The denervated muscle.
Publishing House of the Czechoslovak Academy of Science, Prag
1962.
34. Gutmann E.
Denervation and disuse atrophy of skeletal muscle.
Ärztl. Forschung, Jg. 23, Heft 2, 1969.
35. Hebel
The anatomy of the laboratory rat.
Verlag: Williams and Wilkins.
36. Henneman E., Olson C.B.
Relations between structure and function in the design of
skeletal muscles.
J. Neurophysiol. 28, 581-598, 1965.
37. Herbison G.J., Jaweed M.M., Ditunno J.F.
Muscle atrophy in rats following denervation, casting,
inflammation and tenotomy.
Arch. Phys. Med. Rehabil. 60, 401-404, 1979.
38. Hermansen L., Wachlova M.
Capillary density of skeletal muscle in welltrained and untrained
men.
J. Appl. Physiol. 30, 860-863, 1971.
39. Hickson R.C., Heusner W.W., Van Huss W.D., Taylor J.F., Carrow
R.E.
Effects of an anabolic steroid and sprint training on selected
histochemical and morphological observations in rat skeletal
muscle types.
Europ. J. Appl. Physiol. 35, 251-259, 1976.
40. Hille H.
Arch. Phys. Ther. (Lpz) 15, 445, 1963.
41. Hille H.
Therapiewoche 15, 171, 1965.
42. Hilton S.M.
The search for the cause of functional hyperaemia in skeletal
muscle.
In: Circulation in skeletal muscle. Ed. by O. Hudlicka. Pergamon
Press, Oxford 137-140, 1968.
43. Hilton S.M., Jeffries M.G., Vrbova G.
Functional specializations of the vascular bed of soleus.
J. Physiol. 206, 543-562, 1970.

44. Hudlicka O.
Muscle blood flow: Its relation to muscle metabolism and function
Swets & Zeitlinger B.V., Amsterdam 1970.
45. James N.T.
Histochemical demonstration of myoglobin in skeletal muscle
fibres and muscle spindles.
Nature 216, 1174-1175, 1968.
46. Jerusalem F.
Muskelerkrankungen.
Thieme, Stuttgart 1979.
47. Karpati G., Engel W.K.
Correlative histochemical study of skeletal muscle after
suprasegmental denervation, peripheral nerve section and skeletal
fixation.
Neurology (Minneap.) 18, 681-692, 1968.
48. Kleditzsch J., Lange A.
Die muskelstimulierende Wirkung von Nieder- und
Mittelfrequenzströmen, isometrischen Spannungs- und aktiven
Bewegungsübungen nach Meniskotomie.
Beitr. Orthop. u. Traumatol. 26, 380-385, 1979.
49. Krause W.
Die Anatomie des Kaninchens.
Engelmann, Leipzig 1884.
50. Kugelberg E., Edström L.
Differential histochemical effects of muscle contractions on
phosphorylase and glycogen in various types of fibers: relation
to fatigue.
J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 31, 415-423, 1968.
51. Lee J.C.Y.
Vascular patterns in the red and white muscles of the rabbit.
Anat. Rec. 132, 597-611, 1958.
52. Maier A., Eldred E., Edgerton V.R.
The effects on spindles of muscle atrophy and hypertrophy.
Exp. Neurol. 37, 100-123, 1972.
53. Maier A., Crockett J.L., Simpson D.R.
Properties of immobilized guinea pig hindlimb muscles.
Am. J. Physiol. 231, 1520-1526, 1976.
54. Melichna J., Gutmann E.
Stimulation and immobilization effects on contractile and
histochemical properties of denervated muscle.
Pflügers Arch. 352, 165-178, 1974.

55. Meyer E.
Über rote und blasse quergestreifte Muskeln.
Anat. Physiol. Wiss. Med. 217-232, Leipzig 1875.
56. Myrhage R.
Microvascular supply of skeletal muscle fibres.
Acta Orthopaedica Scand. Supp. Nr. 168.
57. Myrhage R.
Capillary supply of the muscle fibre population in hindlimb muscles of the cat.
Acta Physiol. Scand. 103, 19-30, 1978.
58. Myrhage R., Hudlicka O.
Capillary growth in chronically stimulated adult skeletal muscle as studied by intravital microscopy and histological methods in rabbits and rats.
Microvascular Research 16, 73-90, 1978.
59. Nishiyama A.
Histochemical studies on the red, white and intermediate muscle fibres of some skeletal muscles. The capillary distribution on three types of some skeletal muscles.
Acta Med. Okayama 19, 191-198, 1965.
60. Ogata T., Mori M.
Histochemical studies of oxidative enzymes in vertebrate muscles.
J. Histochem. Cytochem. 12, 171-182, 1964.
61. Olson C.B., Swett C.P.
A functional and histochemical characterization of motor units in a heterogenous muscle of the cat.
J. Comp. Neurol. 128, 475-498, 1966.
62. Padykula H.A., Herman E.
The specificity of the histochemical method for adenosine triphosphatase.
J. Histochem. Cytochem. 3, 170-183, 1955.
63. Peter J.B., Barnard R.J., Edgerton V.R., Gillespie C.A., Stempel K.E.
Metabolic profiles of three fibre types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits.
Biochemistry 11, 2617-2633, 1972.
64. Pette D., Ramirez B.U., Müller W., Simon R., Exner G.U.
Influence of intermittent long-term stimulation on contractile, histochemical and metabolic properties of fibre populations in fast and slow rabbit muscles.
Pflügers Arch. 361, 1-7, 1975.

65. Plyley M.J., Groom A.C.
Geometrical distributions of capillaries in mammalian striated muscle.
Am. J. Physiol. 228, 5, 1376-1383, 1975.
66. Ranvier L.
Propriétés et structures différentes des muscles rouges et des muscles blancs, chez les Lapins et chez les Raies.
Paris 1873.
67. Ranvier L.
Note sur les vaisseaux sanguine et la circulation dans les muscles rouges.
Arch. Physiol. Norm. Pathol. 6, 446-450, 1874.
68. Richterich R.
Der histochemische nachweis der alkalischen Phosphatase.
Acta Anat. 15, 243-258, Basel 1952.
69. Romanul F.C.A.
Enzymes in muscle. Histochemical studies of enzymes in individual muscle fibers.
Arch. Neurol. 11, 355-368, 1964.
70. Romanul F.C.A.
Capillary supply and metabolism of muscle fibers.
Arch. Neurol. 12, 497-509, 1965.
71. Rosemeyer B., Stürz H.
Musculus quadriceps femoris bei Immobilisation und Remobilisation.
Z. Orthop. 115, 182-188, 1977.
72. Sachs L.
Statistische Auswertungsmethoden.
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1972.
73. Sargeant J., Davies C.T.M., Edwards R.H.T., Maunder C., Young A.
Functional and structural changes after disuse of human muscles.
Clin. Sci. Mol. Med. 52, 337-342, 1977.
74. Schafer E.
Essentials of histology.
Ed. by H.M. Carleton 14th Ed., pp. 142-158. Longmans, Green & Co., London-New-York-Toronto 1947.
75. Schmidt R.F., Thews G.
Einführung in die Physiologie des Menschen.
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1976.

76. Schnizer W., Manert W., Kleinschmidt J., Magyarosy I., Drexel H., Dirnagl K.
Untersuchung zur Frage der transkutanen Wirkung des elektrischen Stromes auf das periphere Gefäßsystem des Menschen.
Z. f. Phys. Med. 4, 238-244, 1980.
77. Siegenthaler W.
Klinische Pathophysiologie.
Thieme Verlag, Stuttgart 1976.
78. Sillau A.H., Banchero N.
Visualization of capillaries in skeletal muscle by ATPase Reaction.
Pflügers Arch. 369, 269-271, 1977.
79. Solandt D.Y., Delury D.B., Hunter J.
Effect of electrical stimulation on atrophy of denervated skeletal muscle.
Arch. Neurol. Psychiat. 49, 802-807, 1943.
80. Stechele F.
Die Auswirkung einer dreiwöchigen Extremitätenimmobilisation auf die Muskulatur und deren Gefäßversorgung und die Möglichkeit einer Prävention der Schädigung durch eine gleichzeitig erfolgende Elektrophotherapie. Untersuchungen am "roten" m. soleus der Ratte.
Dissertation, LMU München 1982.
81. Stein J.M., Padykula H.A.
Histochemical classification of individual skeletal muscle fibres of the rat.
Amer. J. Anat. 110, 103-124, 1962.
82. Stingl J.
Arrangement of the vascular bed in the skeletal muscles of the rabbit.
Folia Morph. 17, 257-265, 1969.
83. Stoel G.
Über die Blutversorgung von weißen und roten Kaninchenmuskeln.
Z. Zellforschung 3, 91-98, 1925.
84. Summers T.B., Hines H.M.
Effect of immobilisation in various positions upon the weight and strength of skeletal muscle.
Arch. Phys. Med. 32, 142, 1951.
85. Szöör A., Boross G., Hollósi T., Szilágyi T., Kesztyüs L.
Experimental investigations on hypokinesis of skeletal muscles with different functions. Changes in muscle weight, protein and contractile properties.
Acta Biol. Acad. Sci. hung. 28, 2, 195-204, 1977.

86. Tomanek R.J., Lund D.D.
Degeneration of different types of skeletal muscle fibres. II.
Immobilization.
J. Anat. 118, 409, 1974.
87. Wakim K.G., Krusen F.H.
The influence of electrical stimulation on the work output and
endurance of denervated muscle.
Arch. Phys. Med. 36, 370-376, 1955.

8. Lebenslauf

Am 21.05.1956 wurde ich als Sohn des Lagerarbeiters Xaver Wagner und dessen Ehefrau Erna, geb. Groß, in Waal, Landkreis Ostallgäu geboren. Ich besuchte von 1962 bis 1966 die Volksschule in Unterdiessen, Landkreis Landsberg/Lech.

Nach der 4. Klasse wechselte ich an das Dominikus-Zimmermann-Gymnasium in Landsberg/Lech über, wo ich im Mai 1975 das Abitur machte.

Im Januar 1976 begann ich bei der Bundeswehr die Laufbahn als Sanitätsoffiziersanwärter und nahm im Sommersemester 1976 an der Ludwig-Maximilians-Universität München das Studium der Humanmedizin auf, welches ich im November 1982 mit dem Staatsexamen abschloß. Seither bin ich bei der Bundeswehr als Sanitätsoffizier tätig.

9. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. med. H. Drexel, Vorstand des Instituts für Medizinische Balneologie und Klimatologie der Universität München, und Herrn Prof. Dr. med. W. Schnizer für die Überlassung des Themas, für die stets freundliche Unterstützung und die wertvollen Anregungen bei der Anfertigung der Arbeit meinen besonderen Dank aussprechen.

Ganz herzlich danke ich Herrn Dr. med. Istvan Magyarosy, der mir bei der Durchführung und Auswertung der Versuche immer mit sehr guten Ratschlägen zur Seite stand, für die Überlassung der Daten und Summenhistogramme.

Mein Dank gilt auch Herrn Dr. rer. physiol. Dipl. Phys. J. Kleinschmidt für die zahlreichen Hinweise bei der statistischen Auswertung der Meßergebnisse.

Herrn Dr. T. Witt aus der Neurologischen Klinik des Klinikums Großhadern der Universität München (Direktor: Prof. Dr. med. Th. Brand) möchte ich für die Überlassung des Arbeitsplatzes im histochemischen Labor und für die stets freundliche Hilfe beim Lösen technischer und methodischer Probleme danken.

Abschließend gilt mein Dank ganz besonders Fräulein F. Anneser für ihre außerordentliche Hilfsbereitschaft beim Anfertigen der histochemisch gefärbten Präparate.

